

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: microbiologie appliquée

Département: écologie et génie de l'environnement

Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale saharienne

« *Cornulaca monacantha* Delil »

Présenté par :

- Abdaoui Meryem Zahra
- Ayed Djamila
- Medjabra Adila

Devant le jury composé de :

Présidente: Mme Ibncherif H M.C.B.

Université de Guelma

Examinatrice : Mme Hamdiken M M.A.A.

Université de Guelma

Encadreur : Mme Boussadia M.I M.C.B.

Université de Guelma

Juin 2018

الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option: microbiologie appliquée

Département: écologie et génie de l'environnement

Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale saharienne

« *Cornulaca monacantha* Delil »

Présenté par :

- Abdaoui Meryem Zahra
- Ayed Djamila
- Medjabra Adila

Devant le jury composé de :

Présidente: Mme Ibncherif H M.C.B

Université de Guelma

Examinatrice : Mme Hamdiken M M.A.A.

Université de Guelma

Encadreur : Mme Boussadia M.I M.C.B.

Université de Guelma

Juin 2018



Remerciement

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous 'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous sommes très heureuses d'arriver aujourd'hui à écrire ces remerciements de tous ces mois de travail de fin d'étude.

*Nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent à notre encadreur **Dr.Boudebbouz-Boussadia M.I.** qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme .merci pour Votre rigueur scientifique, votre grande générosité qui font de vous un exemple à suivre.*

Grand et respectueux remerciement va au Ibncherif d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Merci à Mme Hamdiken pour sa présence nécessaire et utile au sein du jury.

Nous tenons à exprimer notre profonde remerciement à tous ceux qui nous avons soutenu dans la préparation de cette mémoire. A toute les techniciennes du laboratoire : Ratiba, Louisa et Houda qui nous avons permis de travailler dans d'excellentes conditions.

Finalement, Nous tenons à remercier nos très chers parents, nos sœurs, pour leurs soutient morale et physique.

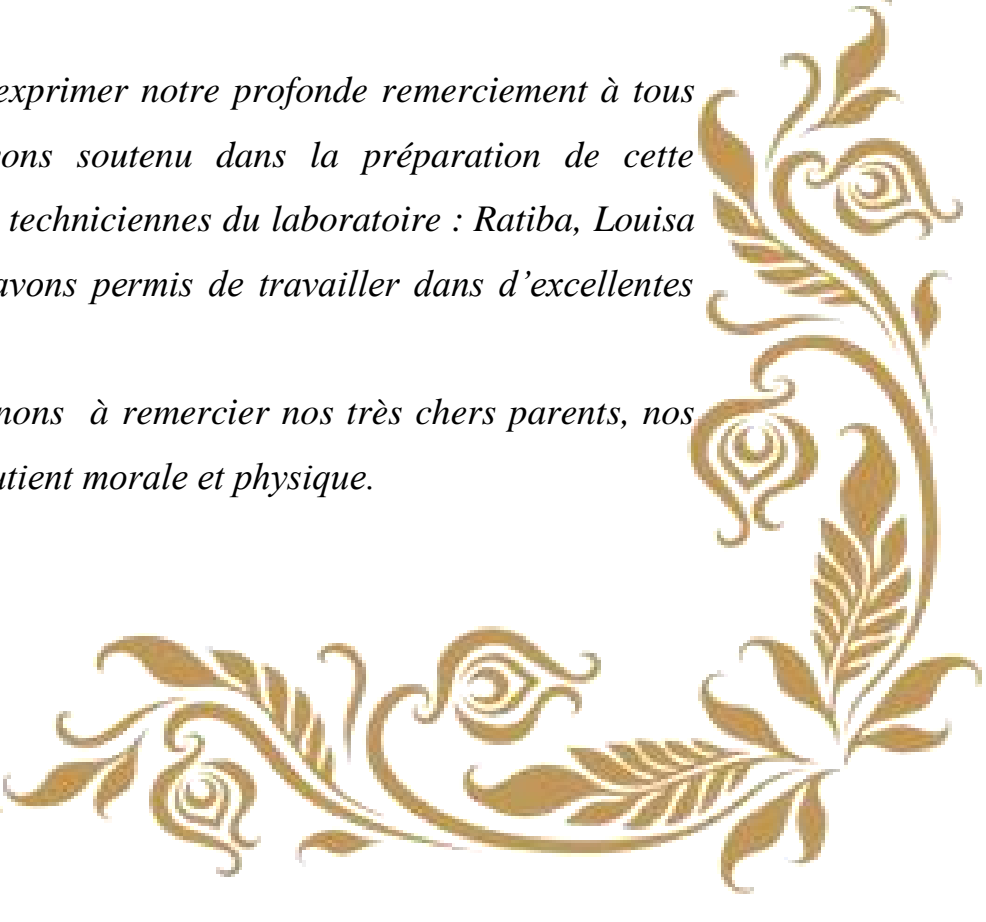


Table des matières

Résumé

Liste des symboles & abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Chapitre 1 :Métabolites secondaires Et Activités biologiques

I. Plantes médicinales et métabolites secondaires	1
I.1. Introduction sur les plantes médicinales	1
I.2. Utilisation historique des plantes médicinales en Algérie	1
I.3. Exemple sur les plantes médicinales sahariennes	2
I.4. Métabolites secondaires	3
I.4.1. Classification des composés phénols	3
I.4.1.1. Les flavonoïdes.....	3
I.4.1.3. Les coumarines	5
I.4.1.4.Les alcaloïdes	6
I.4.2 Intérêts thérapeutiques des composés phénoliques	7
II.Le stress oxydatif	9
II.1. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif	9
II.2.Les maladies liées au stress oxydatif	9
II.3. Activité antioxydante.....	9
II.3.1. Les antioxydants.....	10
II.3.1.1. Les antioxydants endogènes.....	10
II.3.1.2. Les antioxydants exogènes (naturels)	11
III.Antibiothérapie et résistance bactérienne	12
III.1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	13
III.2. Activité antimicrobienne des extraits de plantes	13
Chapitre 02 :Etude ethnobotanique De L'espèce sélectionnée	
I.1. Description botanique	15
I.2. Classification systématique.....	16
I.3. Valorisation de la plante étudiée	16
I.4. Utilisation.....	17
I.5. Répartition géographique	18
I.6. Mécanismes de résistances de <i>cornulaca monacantha</i>	19
I.6.1 Au vent.....	19

1.6.2 À la sécheresse	19
-----------------------------	----

Chapitre 03 :Méthodologie Et Expérimentations réalisées

I.Matériel biologique	21
II.Expérimentations	22
II.1. Mise en évidence de la composition phytochimique	22
II.1.1 les alcaloïdes	22
II.1.2 Les flavonoïdes	23
II.1.3 Les saponosides	23
II.1.4 Les glucosides.....	24
II.1.5 Les Coumarines	24
II.1.6 Les Mucilages	24
II.1.7 les Tanins	24
II.2 Préparation de l'extrait.....	25
III. Dosage des polyphénols et flavonoïdes de <i>C.monacantha</i>	26
III.1 Dosage des phénols totaux	26
III.2. Dosage des flavonoïdes	26
V.Activité antibactérienne	29
V.1 Préparation des suspensions bactériennes	31
V.2 Mode d'ensemencement des souches bactériennes	31
V.3 Test du méthanol ou contrôle négatif	31
V.4 Antibiogramme ou contrôle positif.....	31
V.5 Potentiel antibactérien de <i>Cornulaca monacantha</i>	32
V.5.1 Technique de diffusion sur gélose Muller Hinton	32
V.5.2 Méthode de microdilution en milieu liquide	33

Chapitre 04 : Résultats et Discussion

II.Rendement d'extraction.....	39
III.1 Résultat du dosage des polyphénols totaux	40
III.2 Résultat du dosage des flavonoïdes	41
IV. Evaluation de l'activité antioxydante	42
V. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	44
Conclusion et perspectives	49
Références bibliographique	49
ANNEX	59

Liste des figures

Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes.	4
Figure 2 : structure des saponosides.	7
Figure 3 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.....	10
Figure 4 : Aspect morphologique de <i>Cornulaca monacantha</i>	15
Figure 5 : structure de monacanthin A.....	16
Figure 6 : structure de monacanthin B.....	16
Figure 7:structure de luteolin-7-O-rhamnoside.	17
Figure 8 : structure luteolin-7-O-glucoside.....	17
Figure 9 : répartition géographique de <i>Cornulaca monacantha</i>	18
Figure 10 : Localisation du site du prélèvement de l'espèce <i>Cornulaca monacantha</i> .22	
Figure 11 : Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).	28
Figure 12: la méthode diffusion sur gélose Muller Hinton.....	33
Figure 13 : Détermination de la CMI par la méthode de micro dilution en milieu liquide.	34
Figure 14: Exemple de détermination de la concentration minimale bactéricide.....	34
Figure 15: Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	40
Figure 16: Droite d'étalonnage de la quercitine.	41
Figure 17 : effet antiradicalaire de <i>C.monacantha</i> sur le radical DPPH.....	43
Figure 18: Présentation graphique de l'activité antibacterinne de l'extrait de la partie aérienne de <i>C. monacantha</i>	47
Figure 19: Présentation graphique de l'activité antibacterienne de l'extrait la partie racinaire.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques familles de plantes médicinales sahariennes algériennes.	2
Tableau 2 : Tableau récapitulatif des six classes de flavonoïdes.	4
Tableau 3 : souches bactériennes et pathogénicité.....	29
Tableau 4 : Milieux de culture utilisés.	30
Tableau 5 : Diamètres critiques des antibiotiques utilisés	32
Tableau 6 : Résultats du screening phytochimique de l'espèce végétale sélectionnée.	38
Tableau 7 : Rendement de l'extraction.	39
Tableau 8 : Résultats d'un antibiogramme.....	44
Tableau 9 : Résultats des CMI et CMB des extraits de <i>C.monacantha</i>	49

Liste des symboles &abréviations

Abs : Absorbance.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

ATB : Antibiotique.

BN : Bouillon Nutritif.

CMB : Concentration Minimal Bactéricides.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

DPPH : 2,2-Diphényle-1-Picrylhydrazyle.

EAG/g d'extrait : Equivalent Acide Gallique Par Gramme D'extrait.

EM : Extrait méthanolique.

EP : Pharmacopée européenne.

EQ/ g d'extrait : Equivalent Quercétine Par Gramme D'extrait.

FeCl₃ : trichlorure Ferrique.

GN : Gélose Nutritive.

H₂SO₄ : Acide Sulfurique.

HCL : Acide chlorhydrique.

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice de 50%.

MH : Mueller Hinton.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde De Sodium.

NH₄OH : Hydroxyde D'ammonium.

UV : Ultraviolet.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine botanique national surtout les plantes médicinales dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondies, alors il porte sur l'étude de la composition chimique et des activités biologiques à savoir antioxydante et antibactérienne de la partie aérienne et racinaire de l'espèce végétale *Cornulaca monacantha*, collectée à partir du grand erg oriental algérien.

Le criblage phytochimique montre la présence de flavonoïdes, tanins, saponosides, coumarines, glucosides, des stérols et tritépènes, dans la plante étudiée.

Les polyphénols totaux déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu représentent 64.03 mg EAG/g extrait. En revanche la teneur des flavonoïdes déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium est équivalente à 6.82mg EQ/extrait.

L'activité antioxydante évaluée en utilisant la méthode de réduction du radical libre DPPH montre un taux d'inhibition de 93.32%, la concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) est estimée à 0.5 mg/ml.

L'activité antibactérienne réalisée par la méthode de diffusion sur disque montre des réponses variables des 21 souches vis-à-vis des extraits testés dont les zones d'inhibitions sont généralement comprises entre 0 à 15 mm.

En effet, les concentrations minimales inhibitrices des extraits varient de 3.75 à 15 mg/ml. On peut distinguer que *S. aureus IU*, *S.aureus IH*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa IF*, *Citrobacter koseri*, *S.aureus ATCC43300* et *S. epidermidis* sont les souches les plus sensibles à faible dose de 3.75 mg/ml, suivie de *Klebsiella pneumoniae IU*, *Citrobacter koseri P*, *Pseudomonas aeruginosa IH*, *Acinetobacter baumannii IF*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae IU* et *S,aureus ATCC25923* avec des CMI de l'ordre de 7.5 mg/ml. Tandis que pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* la CMI est équivalente à 15 mg/ml.

Pour la CMB, les résultats montrent une activité minimale bactéricide sur les souches : *S. aureus P*, *S. aureus ATCC 43300*, *S, aureus IU*, *Enterobacter cloacae IH*, *Acinetobacter baumannii IF*, *Pseudomonas aeruginosa IF*, *Citrobacter koseri IH*, *S. epidermidis* à une valeur de 3.75mg/ml. Par ailleurs, la croissance de *Klebsiella pneumoniae IU*, *Citrobacter koseri IH*, *Pseudomonas aeruginosa IH*, et *E. coli IU*, est arrêtée à une valeur de 7.5mg/ml.

Mots clés : *Cornulaca monacantha* ; extrait méthanolique ; activité antioxydante ; activité antibactérienne ; CMI ; CMB.

Abstract

This work is part of the study of national botanical heritage especially medicinal plants, much of which remains untouched and requires in-depth studies, so it focuses on the study of chemical composition and biological activities namely Antioxidant and antibacterial of the aerial and root part of the plant species *Cornulaca monacantha*, collected from the great Algerian Oriental Erg.

Phytochemical screening shows the presence of flavonoids, tannins, saponosides, coumarins, glycosides, sterols and triterpenes, in the plant studied. Total phenolic contents were determined using Folin-Ciocalteu reagent, it was: 64.03 mg CAE/g extract. In contrast, the flavonoids contents was determined using a method AlCl₃, it is equivalent 6.82 mg QE/g extract.

The antioxidant activity evaluated using the DPPH free radical reduction method demonstrated a great capacity to scavenging the DPPH radical where the percentage of inhibition was 93.32%. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) is estimated at 0.5 mg / ml.

The antibacterial sensitivity of the extracts towards 21 bacterial strains by using the disc diffusion on the Muller Hinton agar showed a significant inhibition against all bacteria tested. Inhibition zones are generally between 0 and 15 mm.

The results of the minimum inhibitory concentration (MIC) show that the *S. aureus* ATCC 358, *S. aureus* IH, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC423, *Citrobacter koseri*, *S. aureus* ATCC43300 et *S. epidermidis* Inhibited at a dose of 3.75 mg / ml. With regard to species

a MIC of 7.5 mg / ml is demonstrated *Klebsiella pneumoniae* IU *Citrobacter koseri* P *Pseudomonas aeruginosa* IU, *Acinetobacter baumannii* U, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* IH and *S. aureus* ATCC25923

On the other hand, *Klebsiella carbapenemase* she is inhibited at a higher concentration (15 mg / ml).

A bactericidal effect is also determined with concentrations of 3.75 mg/ml on strains *S. aureus* P, *S. aureus* ATCC 43300, *S. aureus* IU, *Enterobacter cloacae* IH, *Acinetobacter baumannii* U, *Pseudomonas aeruginosa* IF, *Citrobacter koseri* IH, *S. epidermidis*. And 7.5 on: *Klebsiella pnemoneae* IU *Citrobacter koseri* IH *Pseudomonas aeruginosa* IH, and *E. coli* IU

Key words: *Cornulaca monacantha*, methanol extract, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, MIC, MIB.

المخلص

ينصب هذا العمل في إطار دراسة الموروث النباتي الوطني خاصة النباتات الطبية والتي لا يزال قسم كبير منها يتطلب دراسات معمقة. حيث كان الهدف من بحثنا هذا الدراسة الفيتو كيميائية والفعالية البيولوجية (المضادة للأكسدة و ضد البكتيرية) للجزء الهوائي والجذري لنبات التي تم جمعها من منطقة العرق الشرقية الكبيرة في الجزائر.

أظهر الكشف الكيميائي عن وجود كل من الفلا فونويدات، التانينات، الصابونوزيدات، القلويدات، الكومارينس، الجلوسيدات،الستروول والترتيربانات في البنية المدروسة. قدرت كمية الفينولات من خلال استعمال طريقة Folin-Ciocalteu بـ 64.03 مع مكافئ من حمض الغاليك /غ من المستخلص. ومن جهة أخرى فقد قدرت كمية الفلافونويدات من خلال ثلاثي كلوريد الألمنيوم بـ 6.82 مكافئ الكرسئين /غ من المستخلص.

أظهرت نتائج النشاط المضاد للأكسدة مع الجذر الحر DPPH أن المستخلص الميثانولي له قدرة عالية على كبح هذا الجذر بنسبة تثبيط تقدر بـ93.32% أما التركيز المثبط بنسبة 50 % (IC 50) يقدر بـ0.5 مغ/مل.

أبدى اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على 21 سلالة بكتيرية باستعمال طريقة انتشار الأقراص على جيلوز ميلر هانتن تأثيرا مثبتا. مناطق التثبيط عموما بين 0 و15 ملم.

أما نتيجة الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) تظهر أن التركيز 3.75 مغ /مل يثبط السلالات البكتيرية: *Klebsiella pneumoniae IU Citrobacter koseri P Pseudomonas aeruginosa IH, Acinetobacter baumannii IF, E.coli, Klebsiella pneumoniae IH et S.aureus ATCC25923*

أما فيما يخص التركيز 7.5 مغ/مل فله تأثير على *aureus ATCC 358, S.aureus IH, Enterobacter cloaceae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa ATCC423, Citrobacter koseri, S.aureus ATCC43300 et S. epidermidis* من جهة أخرى تم تثبيطهم بالتركيز 15مغ/مل

نتيجة الحد الأدنى للتركيز المبيد للبكتيريا (CMB) للسلالات *Klebsiella pneumoniae IU Citrobacter koseri P Pseudomonas aeruginosa IU, Acinetobacter baumannii U, E.coli, Klebsiella pneumoniae IU et Citrobacter koseri P Pseudomonas aeruginosa IU, Acinetobacter baumannii U, E.coli, Klebsiella pneumoniae IH et S.aureus ATCC25923* هي 3.75 مغ/مل و 7.5 بالنسبة للسلالات التالية : *aeruginosa IU, Acinetobacter baumannii U, E.coli, Klebsiella pneumoniae IH et S.aureus ATCC25923*

الكلمات المفتاحية :

المستخلص الميثانولي، النشاطات المضادة للبكتيريا، النشاطات المضادة للأكسدة،*Cornulaca monacantha*، CMB،

CMI

Introduction générale

Le Sahara, le plus vaste et le plus chaud des déserts du monde, posé de dans sa partie Nord, une végétation diffuse et clairsemée. La flore spontanée dans cette zone ainsi que les relations entre l'homme et les espèces végétales méritent une attention particulière. Les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales ont été pendant longtemps le principal, voire l'unique recours de la tradition orale pour soigner les pathologies, en même temps que la matière première pour la médecine moderne. **(Ould El Hadj et al., 2003).**

Actuellement l'Organisation Mondiale de la Santé estime qu'environ 80% des habitants du monde ont recours à la médecine traditionnelle à base de plante en tant que soins de santé primaire. **(OMS, 2012).**

Ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressent aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments; sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel. **(Berube et Gagnon, 2006).**

L'Algérie est considérée parmi les pays connus pour leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendu entre la Méditerranée et l'Afrique sub-saharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être. Nous partageons avec les méditerranéens et les pays du Sahel un large éventail de composés et d'éléments phytochimiques d'un intérêt grandissant d'où la nécessité et l'importance de ce travail de recherche. **(Pereira et al., 2003).**

Plusieurs plantes sahariennes fréquemment utilisées dans la pharmacopée traditionnelle, se sont vues reconnaître un effet thérapeutique au cours des siècles. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'études phytochimiques et ont abouti à l'isolement et à l'identification de principes actifs. C'est dans le cadre de la valorisation de notre patrimoine naturel que s'inscrit notre étude. **(Moussaoui et al., 2010 ; Babaamer et al., 2012 ; Sekkoum et al., 2014).**

L'espèce végétale sélectionnée est « *Cornulaca monacantha* » de la famille des Chenopodiaceae.

La démarche poursuivie dans la réalisation de ce travail consiste à:

- Un screening phytochimique des métabolites secondaires existant dans la plante.
- Evaluation de la teneur en polyphénols totaux et des flavonoïdes.
- Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la plante selon la méthode du radical libre DPPH.
- Et enfin, une évaluation du pouvoir antibactérien.

Ce manuscrit est présenté en quatre chapitres :

Le premier est consacré à des données bibliographiques traitant l'importance des plantes médicinales et leurs usages dans le traitement des maladies du stress, et infections microbiennes, le second comprend l'étude ethnobotanique de la plante cible

Le troisième chapitre présente la méthodologie et les expérimentations effectuées pour répondre aux objectifs fixés suivi d'un quatrième qui renferme les résultats obtenus, ainsi que leurs discussions, clôturés par une conclusion.

Données bibliographiques



Chapitre 1 :
Métabolites secondaires Et
Activités biologiques

I .Plantes médicinales et métabolites secondaires

I.1. Introduction sur les plantes médicinales

Plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes composent la flore mondiale . Environ 250 000 d'entre elles ont été décrites et répertoriées . Ces plantes, véritables usines chimiques, synthétisent des molécules appelées métabolites primaires qui leur sont vitales (sucres, acides aminés, protéines, acides nucléiques,...).Elles synthétisent également des molécules qui leur permettent de contrôler leur environnement, de survivre ou encore de se reproduire en éloignant les prédateurs ou en attirant des insectes pollinisateurs (composés phénoliques, terpènes, stéroïdes,...).Certaines de ces molécules naturelles sont efficaces contre les maladies humaines. L'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Il est d'abord intéressant de remarquer que 30%environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre de nombreuses plantes ont un effet bénéfique sous forme de tisanes ou d'extraits de plantes. Médicaments à part entière, avec tous les bénéfices qu'elles peuvent apporter, mais aussi avec les risques liés à leur consommation. **(Abayomi,2010).**

I.2. Utilisation historique des plantes médicinales en Algérie

Chaque culture a une histoire concernant l'utilisation des plantes médicinales pour traiter leurs maux. En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales est vieille d'un millier d'années. Les premières écritures sur les plantes médicinales en Algérie et dans le Maghreb remontent au 9ème siècle où Ishâ-Ben-Amran (docteur du prince de Kairouan, de la Tunisie) a laissé de divers traités sur la médecine et les drogues simples **(Baba aissa, 2000).**

Même pendant le colonialisme Français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces comme médicinales et un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie était publié en 1942 par Fourment et Roques. Ils ont mentionné 200 espèces décrites et étudiées pour la plupart d'elles dans le Nord d'Algérie et seulement 6 espèces du Sahara. Actuellement, les plantes du territoire algérien sont largement employées dans divers domaines de la santé afin de traiter plusieurs maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables **(Benhouhou, 2005).**

I.3. Exemple sur les plantes médicinales sahariennes

Le Sahara Algérien, réputée par son extrême aridité, avec ses faibles disponibilités en eau et en plantes, les conditions désertiques atteignent leur plus grande âpreté et présente des formations géomorphologiques différentes. Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures dont une partie reste de nos jours utilisée par les populations locales, comme plantes médicinales qui possèdent des propriétés pharmacologiques qui leur confèrent un intérêt médicinal (Slimani *et al.*, 2015).

Tableau 1 : Quelques familles de plantes médicinales sahariennes algériennes. (OULD EL HADJ *et al.*, 2003)

	Famille	Nom scientifique	Indication	Partie utilisée	Mode d'utilisation
MONOCOTYLEDONES	Graminées	<i>Aristida pungens</i> Desf.	Constipation, maux d'estomac, indigestion	Partie aérienne	Macération, tisane
		<i>Cymbopogon shoenantus</i> (L) Spreng.	Anurie, odontalgie, fortifiant	Rhizome, tige souterrain ou rampante	Infusion, bain buccal et gargarisme
		<i>Cynodon dactylon</i> (L) Pers.	Affection des voies urinaires et biliaires, arthrite, rhumatisme	Feuilles, tiges et rameaux	Decoction, tisane
		<i>Panicum turgidum</i> Forsk	Vulnéraire, blessure, traumatisme	Feuilles, rameaux	Infusion, tisane, poudre, macération
DICOTYLEDONES	Composées	<i>Anvillea radiata</i> Coss. Dur.	Refroidissement pulmonaire, indigestion	Feuilles, tiges	Infusion, macération
		<i>Artemisia herba alba</i> Asso.	Troubles digestif et respiratoire, rhumatisme, obésité, refroidissement, aromate	Feuilles, rameaux, fleurs	Infusion, macération tisane
		<i>Cotula cinerea</i> Del.	Colique, diarrhée, toux, refroidissement broncho-pulmonaire	Feuilles et rameaux	Infusion, décoction, macération, inhalation
	Chénopodiées	<i>Haloxylon articulatum</i> Boiss.	Indigestion, piqûres de scorpion, dermatoses, dorsalgie.	Feuilles, rameaux, fleurs	Décoction, macération, cataplasme, pomade

I.4. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Ces produits du métabolite secondaire sont en de très grand nombre, plus de 200 000 structures définies (**Hartmann, 2007**) et sont d'une variété structurale extraordinaire, mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille, ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Epifano *et al.* 2007**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham., 2005**), et constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques (**Lugasi *et al.* 2003**).

I.4.1. Classification des composés phénols

Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins. (**Boros, 2010**).

I.4.1.1. Les flavonoïdes

Flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux ; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromos plastes le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. (**Bouakaz, 2006**).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaines) (**Bessas., 2011**).

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation.les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol. (**Guillouty, 2016**).

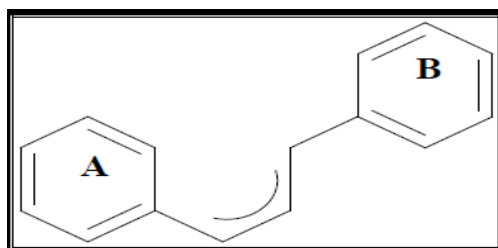


Figure 1 : Squelette de base des flavonoïdes.

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des six classes de flavonoïdes.

Structure de base	Formule chimique	Origine	Principales molécules
Anthocyane 		Baies, fruits rouges, vin	Cyanidine, pélargonidine, Malvidine ; delphinidine
Flavonol 	3- hydroxy-2-phénylchromen-4- one	Oignons, brocolis , tomate, thé	Quercétine, kaempférol, myricétine
Flavone 	2- phénylchromen-4- one	Tisanes, plantes aromatiques	Apigénine, lutéoline
Flavonone 	2.3-dihydro-2-phénylchromen-4- one	Agrumes	Herpéretine, naringénine, ériodictyol
Isoflavone 		Soja, légumineuses	Daidzéinegénistéine
Flavanol 	2-phényl-3-chromanol	Fruits, cacao, thé, vin	Catéchines, gallocatéchines (monomères), proanthocyanidines (polymères)

I.4.1.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tel que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...), leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Bessas,2011**).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

a- Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine .Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**bessas, 2011**).

b- Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Boudjouref., 2011**).

-**Tanins galliques (Gallo tanins) :** Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.(**Boudjouref, 2011**).

- **Tanins ellagiques (Ellagitanins) :** Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Boudjouref, 2011**).

I.4.1.3. Les coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymelacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Guignard, 1998 ; Deina et al., 2003 ; Booth et al., 2004**).

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**Ford et al., 2001**).

I.4.1.4. Les alcaloïdes

a-définition

La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winter Stein et trier en 1910 : « un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe (**Badiaga; 2011**). Plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose » (**Zenk et Juenger, 2007**). Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10 000 à 12 000 différentes structures (**Roberts et Wink 1998 ; Stockigt et al., 2002**).

b- Leurs propriétés

Si dans les plantes, les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme (**McCalley., 2002, Silvestrini et al., 2002, Stöckigt et al., 2002**) :

- Action sur le système nerveux central comme anti dépresseur
- Action sur système nerveux autonome
- Action antibiotique, antiparasitaire, anthelminthique à des doses variées.
- Action antitumorale.

I.4.1.5. Saponosides

Le terme saponosides est dérivé du mot savon, ce sont des terpènes glycosylés, comme ils peuvent aussi se trouver sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (**Iserinet al., 2001**).

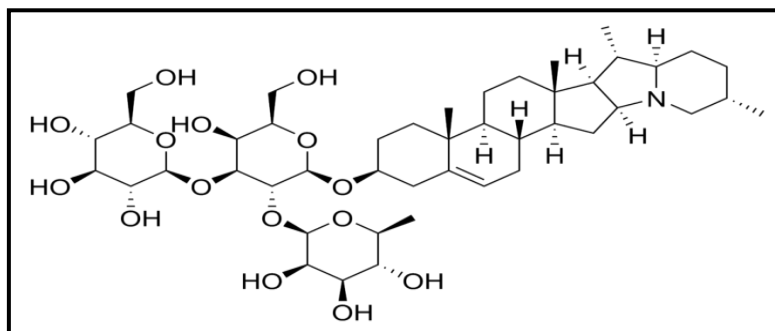


Figure 2 : structure des saponosides.

I.4.1.6. Les terpènes

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth : « *Pistacia Terebinthus* » (**Ayad, 2008**).

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (**Bruneton, 2009**). Les terpénoïdes sont des substances généralement lipophiles, formés par la réunion d'unités pyrophosphate isopenténoïdes à cinq carbones provenant de la voie de l'acide mévalonique (**Judd et al., 2002 ; Hopkins, 2003**). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage.

I.4.2 Intérêts thérapeutiques des composés phénoliques

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Ksouri et al., 2007**).

Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Nijveldt et al., 2001**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Berkal et Bouchama, 2016**).

D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent

maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, Leur activité anti-oxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Hannebelle et al.,2004**)

II. Le stress oxydatif

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif **(Halmi, 2015)**.

Les radicaux libres produits par divers mécanismes physiologiques sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants /peroxydant est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ». **(Favier, 2003)**.

II.1. Les conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides **(Favier, 2003)**.

II.2. Les maladies liées au stress oxydatif

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies. **(Georgetti et al, 2003, Atawodi, 2005)**. Les premières catégories du stress oxydant c'est : Les rhumatismes, l'arthrite, l'arthrose, la cataracte, le syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA), l'œdème pulmonaire... et de façon générale, le vieillissement accéléré de tissus comme la peau.

La deuxième catégorie : Le diabète, la maladie d'Alzheimer, les cancers et les maladies cardiovasculaires. Les problèmes principal est que l'organisme a des difficultés à réguler les phénomènes inflammatoires initiés par exemple par la défense contre une attaque virale ou bactérienne. **(Beddou, 2015)**.

II.3. Activité antioxydante

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire **(Guinebert et al. 2005)**.

II.3.1. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dis-mutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).

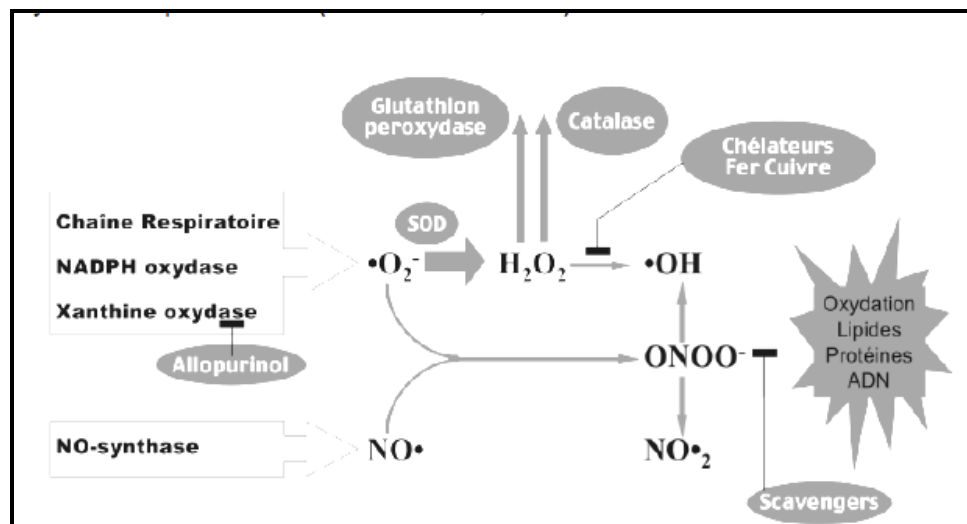


Figure 3 : Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.

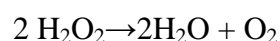
Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes :

II.3.1.1. Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase dont les mécanismes sont développés plus haut (Guillouty, 2016). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

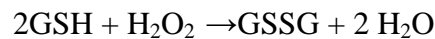
❖ La catalase

Les catalases sont localisées dans les peroxysomes et sa cible principale est le H_2O_2 . Cette place est stratégique puisque c'est ici que des enzymes comme les flavines, l'urate oxydase, le glucose oxydase et les D-amino-oxydases produisent des radicaux libres H_2O_2 . L'activité de la catalase est coordonnée avec la concentration en H_2O_2 (Guillouty, 2016).



❖ La glutathion peroxydase

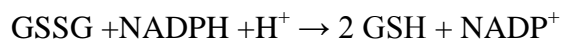
Les glutathion peroxydases sont localisées dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et dans la membrane interne des mitochondries. Elles permettent de réduire H₂O₂ en H₂O en parallèle de l'oxydation du glutathion.



Quatre glutathion peroxydases à sélénium ont été identifiées : cellulaire, extracellulaire, intestinale et le phospholipide glutathion peroxydase. (**Thérond P. 2003**).

❖ La glutathion réductase

La glutathion réductase est une enzyme qui catalyse la régénération du glutathion réduit (GSH) par le co-facteur NADPH.



Cette enzyme est pleinement intégrée dans le cycle d'élimination de l' H₂O₂ utilisant les couples redox GSSH/GSH, NADP⁺/NADPH.

❖ Superoxyde dismutases

Les superoxydes dismutases sont des métalloenzymes (ce sont des enzymes utilisant des métaux comme cofacteurs). Il s'agit d'une des premières lignes de défense contre les ERO. Leur cible privilégiée est l'anion Superoxyde (O₂) qu'elle transforme en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (**Guillouty, 2016**).

II.3.1.2. Les antioxydants exogènes (naturels)

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *In vivo* ont été proposées. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda et al, 1999**).

❖ La vitamine E

La vitamine E ou α -tocophérol, est un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux pyroxyles lipidiques RO₂.qui propagent les chaînes de peroxydation. La partie active de la

molécule étant la fonction phénol réductrice. Celle-ci perd facilement un atome d'hydrogène et se transforme en radical α -tocophéryle, tandis que le radical pyroxyde est réduit en une molécule d'hydroperoxyde. De plus, l' α -tocophérol capte les radicaux su-peroxydes (sous leur forme protonée HO_2), les radicaux hydroxyles $\cdot\text{OH}$, ainsi que l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ (Gardès-Albert *et al*, 2003).

❖ Les polyphénols

Les polyphénols sont capables de piéger des espèces radicalaires et de chélater les métaux de transition comme le Fer et le Cuivre qui permettent de catalyser les oxydations. Ils sont cependant présents en faible concentration dans le plasma et sont principalement retrouvés sous forme conjuguée et donc n'ont probablement que des effets indirects *in vivo*. Il paraît néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets anti-athérogéniques, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques, anti-cancérigènes. (Stevenson *et al.*, 2007).

III. Antibiothérapie et résistance bactérienne

L'élimination des micro-organismes pathogènes fait appel à des substances dites : antibiotiques. Ces derniers sont synthétisés par des micro-organismes (le plus souvent des champignons). Ils ont la capacité soit de détruire les bactéries (effet bactéricide), ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Elghozi et Duval., 1992).

Les antibiotiques agissent :

- ❖ **Sur la synthèse de la paroi bactérienne** : en bloquant la Trans peptidase qui intervient pour synthétiser la paroi des cellules-filles en provoquant la formation de paroi incomplète aboutissant à l'éclatement de la bactérie.
Exemple : β lactamines, la bacitracine et la vancomycine.
- ❖ **Sur la structure de la membrane cytoplasmique** : ils altèrent la membrane cytoplasmique et la dissocient ce qui entraîne une fuite du cytoplasme. Exemple : polymyxine et la colistine.
- ❖ **Sur la synthèse des protéines bactériennes** : l'ADN du noyau transmet à l'ARN messager (ARNm) le code de synthèse des protéines. Cet ARNm vient en contact du ribosome rencontré l'ARN de transfert (ARNt) qui apporte les aminoacides.

Certains antibiotiques empêchent la libération de l'acide aminé par l'ARNt.

Exemple : les tétracyclines.

D'autres gênent la lecture du code de synthèse sur l'ARN messager. Exemple : les aminosides.

Le chloramphénicol inhibe l'enzyme qui permet aux acides aminés codés de s'assembler en polypeptide utile.

❖ **Sur l'ADN nucléaire** : en gênant la réplication de l'ADN.

Exemple : rifampicine, l'acide nalidixique.

III.1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance d'un germe peut exister, si le germe appartient à la même espèce (résistance naturelle) alors que la résistance acquise n'intéresse que certaines souches. Cette dernière se développe au fur et à mesure que l'antibiotique est administré. Elle se traduit par une augmentation de la concentration minimale inhibitrice. Dans 10%, cette résistance acquise est due à des modifications génétiques de la bactérie, alors que dans 90% des cas cette résistance est due à l'acquisition de plasmides qui sont des molécules d'ADN se trouvant dans le cytoplasme des bactéries. Le transfert des plasmides se fait par conjugaison, par mobilisation ou par transformation. La résistance plasmidique permet à la bactérie d'élaborer des enzymes capables de détruire la molécule d'antibiotique par exemple des β lactamases pour les β lactamines, des adénylases-acétylase-phosphorylases pour les aminosides, les tétracyclines, et les sulfamides. Cette résistance des germes aux antibiotiques explique l'importance de l'antibiogramme qui permet de choisir l'antibiotique le plus efficace vis à vis d'un germe déterminé et la mise en évidence des germes multi-résistants dont la dissémination doit être évitée en milieu hospitalier (**Fatorrusso et al. 2001**).

III.2 Activité antimicrobienne des extraits de plantes

L'utilisation des antibiotiques conduit dans la très grande majorité des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est due à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, phages, transposons, intégrons).

Ces résistances ont conduits à chercher de nouveau agents antimicrobiens possédant une efficacité plus importante que les drogues synthétiques d'une part et bien accepté

par l'organisme d'autre part (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008 ; Kempf et Zeitouni., 2009**).

Beaucoup de groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que : fennel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Menthapiperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mais aussi contre les champignons, les levures et les virus (**Jürgen et al ., 2009**).

D'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**).

Chapitre 02 :

Etude ethnobotanique De L'espèce sélectionné

I. Description botanique

Cornulaca monacantha (fig.4) est un arbrisseau droit, peu rameux, haut d'un mètre à un mètre et demi (3pieds à 4 pieds et demi). Son tronc est nu, épais de deux doigts. Ses rameaux sont cotonneux, couverts, ainsi que les feuilles, de poils étoilés très-serrés et confondus ensemble ; ces rameaux sont garnis d'aiguillons recourbés en dessous. Les pétioles des feuilles sont canalicules en dessus, garnis de quelques aiguillons ; la nervure moyenne des feuilles est aussi aiguillonnée en dessus et en dessous, jusqu'à la moitié de sa longueur : les feuilles sont les unes ovales-arrondies, planes, longues de 5 centimètres (2pouces), sinueuses, à échancrures très-légères, obtuses ; les autres sont en cœur, avals-aigues, longues de 11 à 14 centimètres (4 à 5 pouces), ondulées, à plis enfoncés, échancrées en dent ou lobes larges, triangulaires : la face inférieure des feuilles est plus pale que la supérieure. La floraison de lieu en automne (**Panckoucke, 1824**).



Figure 4 : Aspect morphologique de *Cornulaca monacantha*.(boudbouz Ali)

II. Classification systématique

Selon la littérature, la classification botanique de *Cornulaca monacantha* est la suivante:

- ❖ **Ordre :** *Caryophyllales*
- ❖ **Famille :** *Chenopodiaceae*
- ❖ **Sous famille:** *Salsoloideae*
- ❖ **Genre:** *Cornulaca*
- ❖ **Espèce :** *monacantha*

Nom Vernaculaire : *Had ; djouri ; tahara*

III. Valorisation de la plante étudiée

Cornulaca monacantha contiennent deux gallotannins connus, penta-O-galloyl-bêta-Dglucose et de 1, 2, 3,6-tétra-O-galloyl -bêta-D-glucose (Kandilet *al.* 1998) et deux gallotannins nouvellement identifiés: Monacanthin A et B (Kandil *et al.*, 2001)(fig. 5 et 6).

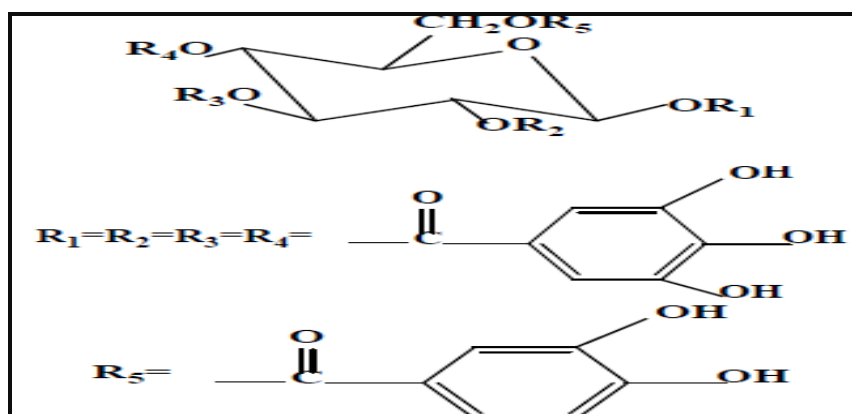


Figure 5 : structure de monacanthin A.

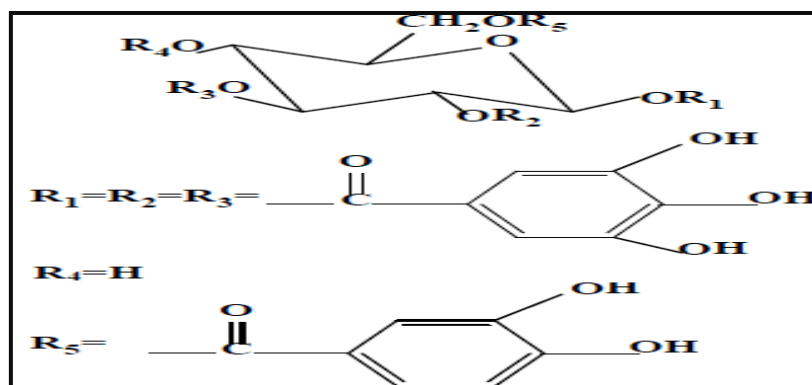


Figure 6 : structure de monacanthin B.

Deux flavonoïdes connus également sont rencontrés la lutéoline-7-Orhamnoside et lutéoline-7-O-glucoside, ainsi que des saponines tri-terpenoidal (**Kamel et al. 2000**) et tri-terpènes) (fig 7 et 8) (**Al-jaber et al.,1991**).

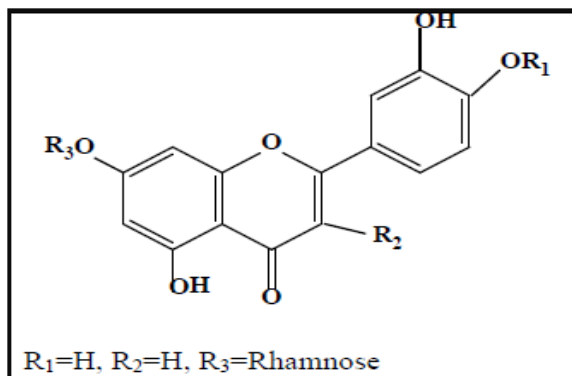


Figure 7: structure de luteolin-7-O-rhamnoside.

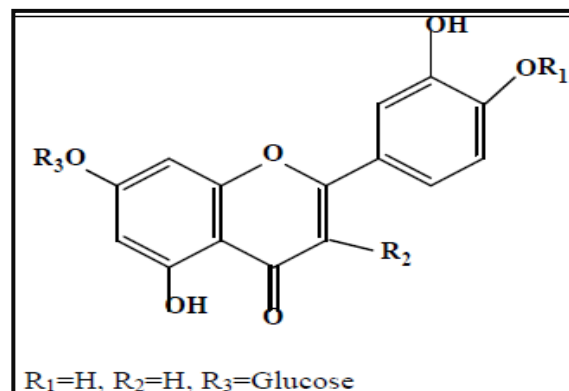


Figure 8 : structure luteolin-7-O-glucoside.

IV. Utilisation

IV.1 En médecine

Une décoction de feuilles de *Cornulaca monacantha* est utilisée comme médicament traditionnel contre les problèmes de jaunisse et de foie et comme purgatif. Il est utilisé aussi pour traiter la gale. (**Louis Domeny ,2010**).

Dans l'Ahggar comme au Tassili n'Ajjer l'ictère et les troubles hépatiques constituent l'indication majeure.

Un verre à thé de la décoction des parties aériennes est absorbé, tiède, 3 fois par jour jusqu'à ce que la conjonctive perde sa couleur jaune. A Djanet l'infusion de plante fraîche est absorbée en cas d'indigestion jusqu'à obtenir des vomissements qui soulagent le patient. Un traitement similaire mais curieux des «maladies de foie» est rapporté: le malade absorbe l'infusion et se met à courir, jusqu'à ce qu'il obtienne un effet éméto-cathartique (**Voinot in Maire, 1933**).

Au Sahara central la décoction est appliquée, sous forme de compresses pour les diverses dermatoses. Pour traiter les abcès on préfère la plante fraîche pilée avec laquelle on fait un cataplasme. (**Maizia, 2015**).

IV.2 En pâturage

Fournit une excellente nourriture et pâturage pour les chameaux qui ne sont pas rebutés par les pointes piquantes de la plante. Cette plante augmente l'approvisionnement en lait produit par les femelles en lactation. (Louis Domeny, 2010).

IV.3 En Bio adsorption du mercure

Cornulaca monacantha la plante du désert a été utilisée comme un moyen de dépollution par son rôle d'adsorption des ions Hg (II) d'eau contaminée après traitement à l'acrylamide en milieu alcalin pour former du *Cornulaca monacantha* carbamoyléthylé(CECM). Le CECM peut être considéré comme un bio-polymère microporeux; par conséquent, les pores sont suffisamment grands pour laisser passer les ions Hg (II). Le mécanisme d'adsorption d'Hg (II) sur des adsorbants poreux peut impliquer quatre étapes: diffusion d'ions à la surface externe de l'adsorbant; la diffusion des ions dans les pores de l'adsorbant; l'adsorption des ions sur la surface interne de l'adsorbant.(Hashem ,2013).

V. Répartition géographique

La végétation et sa répartition géographique sont dépendantes de plusieurs facteurs : climatiques topographique hydriques édaphique anthropique cette espèce est surtout présente dans les zones sahariennes d'Afrique du Nord. Elle colonise surtout les sols sableux plus ou moins fixés et profonds.(Giazzi et al 1996).

On peut trouver *Cornulaca monacantha* comme ce présent dans la carte ci-dessous dans le Maroc, la Mauritanie, l'Algérie (très répondu), la Tunisie, le Niger, la Libye, l'Egypte l'Arabie Saoudite, l'Irak, l'Iran et le Pakistan.

Pour notre pays elle Assez commun dans le nord Sahara, commun dans le Sahara central, absent dans les hautes montagnes. (IUCN,2005).

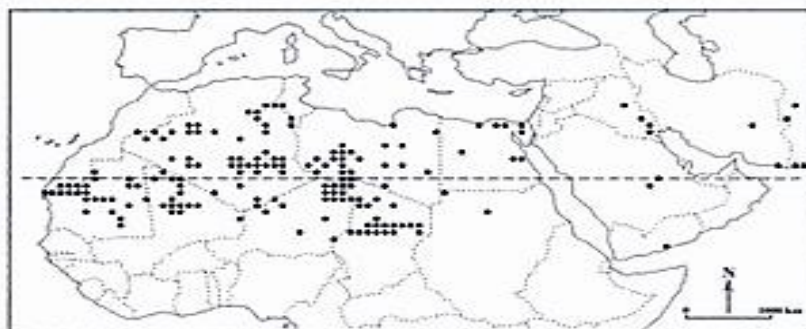


Figure 9 : répartition géographique de *Cornulaca monacantha*.

VI. Mécanismes de résistances de *Cornulaca monacantha*.

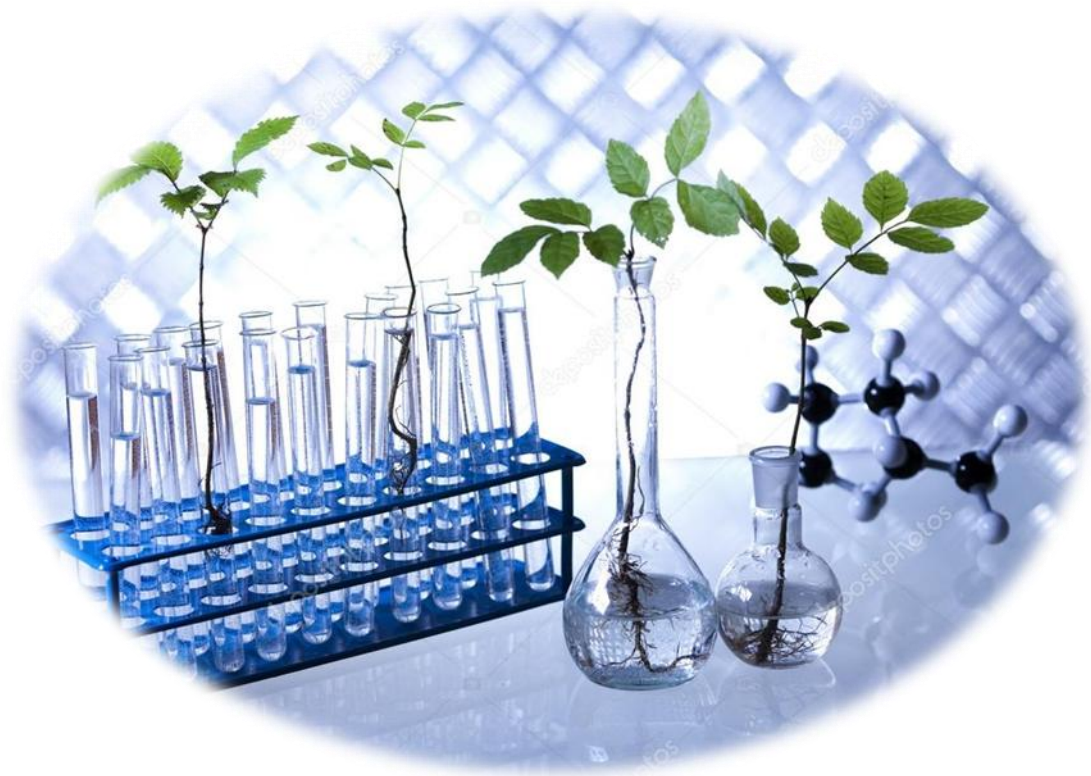
VI.1 Au vent

Dans les régions où souffle un vent dominant orienter des structures dunaires et, sur le sol, la moindre flèche de sable abrité sous le vent du plus petit obstacle, on ne sera pas surpris de voir les végétaux à leur tour soumis à l'action mécanique d'un flux d'énergie capable souvent de déformer un individu dès le stade de la plantule. Parfois c'est la plante adulte toute entière qui témoigne de telles contraintes et c'est ainsi, par exemple, que le had (*Cornulaca monacantha*) recourbé vers le sol à la sorte de celui-ci, se redresse plus loin pour constituer une touffe parfois puissante, transformé en butte par un piégeage du sable volant et qui, malgré les apparences, n'est que posée sur le sol, puisque sa racine se trouve en amont, à l'extérieur de la touffe, parfois à une certaine distance (**Monod, 1958**)

VI.2 À la sécheresse

La tolérance à la sécheresse est la capacité de la plante à résister avec un potentiel hydrique réduit du tissu végétal. *Cornulaca monacantha* est un exemple de tolérance à la sécheresse, elle peut pousser dans les zones arides et hyper arides. La plante a été surmonté le stress de la sécheresse par l'accumulation des hydrates de carbone totaux, un osmolytes organique comme la proline et la glycinebétaine. En plus de l'accumulation de Na^+ comme osmolyte inorganique, qui peut déplacer K^+ dans certains processus métaboliques. (**Mohamed, 2016**).

Chapitre 03 :
Méthodologie Et
Expérimentations réalisées



I. Matériel biologique

I.1. Matériel végétal

I.1.1 Choix de la plante *Cornulaca monacantha*

Le choix de la plante n'est pas basé sur le seul hasard, mais selon un choix bien ciblé. Le plus visé est la valorisation des plantes médicinales sahariennes en vue de leur exploitation dans des activités thérapeutiques diverses (activités antimicrobiennes, cytotoxiques, anti-inflammatoires....). Il est à noter que l'un des buts essentiels de l'examen phytochimique est la détection des composés existants dans la plante ce qui constitue la première étape dans la recherche des molécules bioactives.

I.1.2 Collecte et préparation de l'échantillon végétal

La cueillette, de l'espèce *Cornulaca monacantha* Delil (partie aérienne et racinaire) appartenant à la famille des *Chenopodiaceae* a été effectuée le mois de Janvier 2018 dans une station géographique située dans le grand erg oriental saharien. Ce dernier s'étend dans le bassin des anciennes rivières Igharghar et Ghir qui coulaient vers le nord depuis le massif de l'Ahaggar dans la grande dépression du Chott Melrhir. Les limites du Grand Erg Oriental sont : au sud, le plateau du Tinrhert, la hamada al Hamra en Libye, à l'est, et la grande dépression du Chott Melrhir et du Chott el Djérid au nord, dont des parties se trouvent en dessous du niveau de la mer.

Les coordonnées de la station de prélèvement se situent entre les latitudes 30° 05' N et 30° 25' N et la longitude de 007° 20' E et 007° 50' E. à environ 215 km au sud-est de la ville de Hassi Messaoud- Wilaya d'Ouargla- Algérie (fig10.).

La plante a été débarrassée de tous éléments étrangers, et placée dans des sacs en plastique. L'identification de l'espèce a été faite par Pr. Zaafour, Université Badji-Mokhtar, Annaba (Algérie). Au laboratoire l'espèce végétale a été rincée à l'eau distillée, séchée à l'abri de la lumière, ensuite broyée en poudre par un moulin électrique, puis conservée dans des bocaux en verre sombre fermé hermétiquement en vue des tests phytochimiques et biologiques.

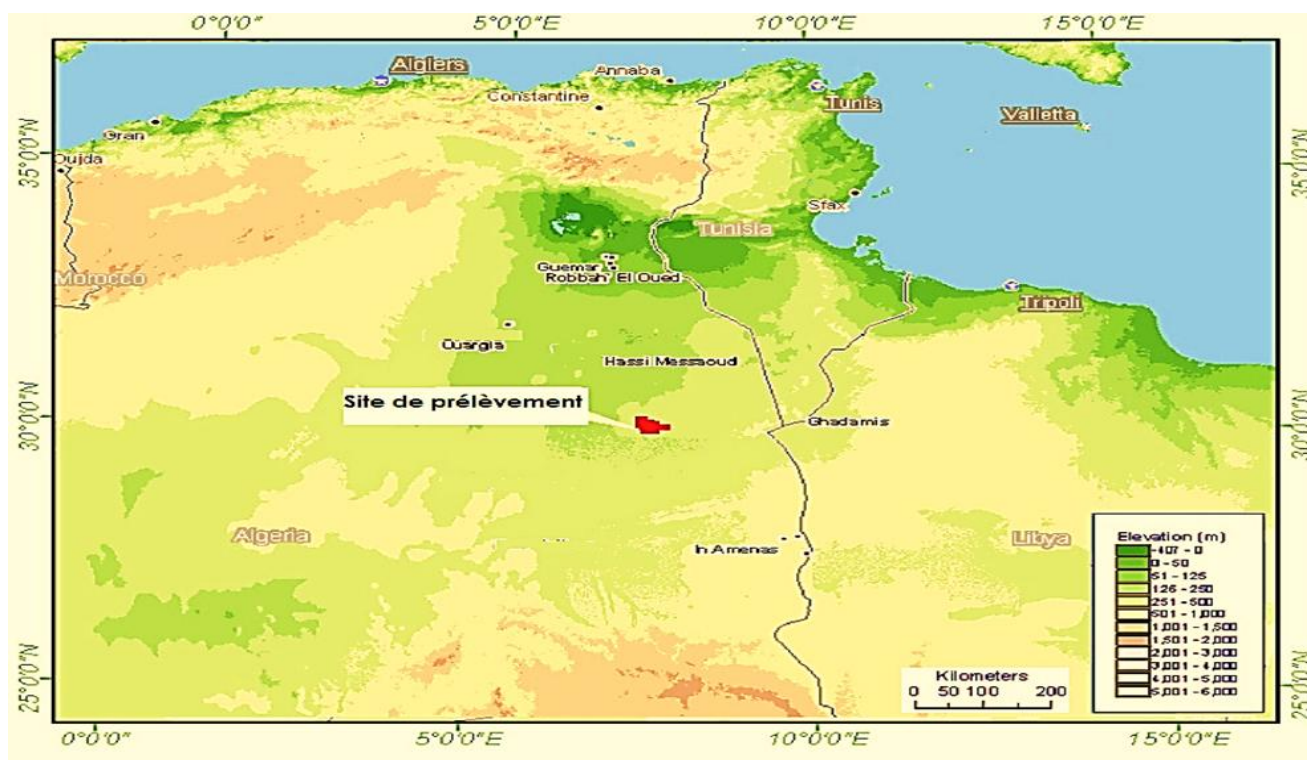


Figure 10 : Localisation du site du prélèvement de l'espèce *Cornulaca monacantha*.

II. Expérimentations

II.1. Mise en évidence de la composition phytochimique

II.1.1 les alcaloïdes

5g de la poudre végétale, dans un erlenmeyer de 250ml, sont mélangés avec 50ml de H_2SO_4 dilué au 1/10. Après agitation puis macération pendant 24 h à température ambiante. Le mélange est filtré sur papier filtre avec lavage à l'eau distillé de manière à obtenir 50ml de filtrat. (Dohou *et al.*, 2003).

II.1.1.1 Réaction de caractérisation

On introduire 1ml de filtrat, dans un tube essai, après on ajoute 5 gouttes de réactif MAYER, la formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes. 1ml de filtrat plus 5 gouttes de réactif WAGNER, s'il apparait un précipité brun c'est qu'on est en présence des alcaloïdes. (Dohou *et al.*, 2003).

II.1.1.2 Test de confirmation

2.5g de poudre végétale est introduit dans un ballon de 500ml, puis on verse 25ml d'acide chlorhydrique (0.05N). Le mélange est laissé en macération sous agitation magnétique à température ambiante pendant 24h, puis on filtre et on lave à l'eau distillée. La solution obtenue est ensuite ajustée à 20ml puis on réalise les deux tests MAYER et WAGNER. (Dohou *et al.*, 2003).

II.1.2 Les flavonoïdes

Dans une fiole, on dispose 3g de poudre végétale avec 75ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition pendant 15min, puis on filtre sur papier filtre et on laisse refroidir (Edeogal *et al.*, 2005).

II.1.2.1 Coloration en milieu alcalin

À 2ml d'extrait on ajoute quelques millilitres de soude au 1/10. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Okmu, 2005).

II.1.2.2 Coloration par perchlorure de fer ($FeCl_3$)

À 2ml de solution extractive on ajoute 2 à 3 gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 2%. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur verdâtre (Okmu, 2005).

II.1.3 Les saponosides

Le principe consiste à déterminer l'indice de mousse persistante pendant 20 min d'une décoction aqueuse à 5%. Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire successivement 1, 2, 3, ..., 10 ml de décocté. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Chaque tube est agité horizontalement pendant 15 secondes puis laissé reposer pendant 15 min. On relève ensuite la hauteur de la mousse persistante en cm. Si celle-ci est inférieure à 1 cm dans tous les tubes, l'indice est moins de 100. La dilution dans le tube où la hauteur de la mousse est égale à 1 cm représente l'indice recherché. Si elle est proche de 1 cm dans le $X^{\text{ème}}$ tube, on calcule l'indice de mousse par la formule suivante :

$$I = \text{hauteur de mousse (en cm) dans le } X^{\text{ème}} \text{ tube} \times 5 / 0,0x$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100. (Beddou, 2015).

II.1.4 Les glucosides

2.5g de poudre végétale est introduite dans 50ml d'acide tartrique, après chauffage pendant 2 heures, on filtre la solution sur papier filtre avec un lavage à l'éthanol. Puis on met le filtrat dans de l'eau chaude. Dans un tube on ajoute 2ml de filtrat 2 gouttes de liqueur de Fehling, puis on chauffe. La réduction de la liqueur de Fehling indique la présence des glucosides (Chaouch, 2001).

II.1.5. Les Coumarines

1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV.

II.1.6. Les Mucilages

On introduit 1 ml du décocté à 10% dans un tube à essai et on ajoute 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux indique la présence de mucilages. (Karumi *et al.*, 2004).

II.1.7. les Tanins

Dans un erlenmeyer, on disperse 5g de poudre dans 100 ml d'eau bouillante, après infusion pendant 15 min, on filtre et on complète le filtrat à 100 ml avec de l'eau distillée.

II.1.7.1 Caractérisation par le chlorure ferrique

À 5 ml de filtrat, on ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 2% puis on agite le mélange. Le test positif est révélé par l'apparition d'une couleur brun-vert. (Karumi, 2004).

II.1.7.2 Différenciation des tanins

A. Tanins catéchiques À 5ml de solution, on ajoute 5 ml d'HCl concentré.

L'ensemble est porté à ébullition pendant 15 min, puis on filtre sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge.

B. Tanins galliques

À 30 ml de solution, on ajoute 15 ml de réactif Stiasny (10ml de formol à 40% et 5 ml d'HCl concentré), puis on chauffe le mélange au bain-marie à 90°C pendant 15 min. Après filtration, le filtrat est saturé par 5 g d'acétate de sodium. Par la suite, 1 ml de FeCl₃ à 1% est ajouté goutte à goutte. L'obtention d'une teinte bleue noire montre la présence de tanins gallique.

II.1.7. Stérols et tritépènes

Mis en évidence par la réaction de Liebermann. 5 ml d'extrait sont évaporés. Les résidus obtenus sont dissous à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique ; 5 ml d'acide sulfurique concentré ajoutés aux triturât. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet ou virant au marron puis au vert, indique une réaction positive. (**beddou, 2015**)

II.2 Préparation de l'extrait

L'extraction est réalisée par macération des deux parties aérienne (250g) et racinaire (24g) dans le méthanol à 85% pendant 24h, suivie d'une filtration. Cette opération est répétée trois fois.

Le mélange des trois filtrats est évaporé à basse température (35 °C) dans un rot à vapeur, le résidu obtenu est mis dans des flacons hermétiquement fermés, puis lyophilisé. Le lyophilisat est pesé afin de calculer le rendement d'extraction.

➤ Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait obtenu et le poids initial de la plante utilisée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m}{m_0} \times 100$$

R : le rendement en % **m** : la masse de l'extrait **m₀** : la masse initiale de la plante.

III. Dosage des polyphénols et flavonoïdes de *C.monacantha*

III.1 Dosage des phénols totaux

III.1.1 Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène ($W_8O_{27}^{3-}$) et molybdène (MO_8^{3-}). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

III.1.2. Protocole

Dans des tubes à essais, on mélange 200µl de l'extrait dilué avec 1000 µl de Folin-Ciocalteu dilué (1/10). Après agitation, le mélange est incubé pendant 4 min. à température ambiante, ensuite, on ajoute 800µl de Na_2CO_3 à (7,5%). Après 2 h d'incubation l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

III.1.3. Expression des résultats

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu (Maisuthisakul et al., 2008). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, cette dernière est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0 – 200 µg/ml), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g). 2 essais sont réalisés pour notre extrait.

III.2. Dosage des flavonoïdes

III.2.1 Principe

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajoute du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al_3^+ sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. (**Bahorun et al., 1996**).

La quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (**Bahorun et al., 1996**).

III.2.2 Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) cité par (**Djeridane et al. ., 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole de dosage est le suivant: Dans des tubes à essai, on mélange 1000 μ l d'extrait dilué avec 1000 μ l de solution d' $AlCl_3$ (2%). Après 10minutes d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbance est faite à 430 nm.

III.2.3 Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine à différentes concentrations (0 – 40 μ g/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g). 2 répétitions sont effectuées pour le présent paramètre. (**Djeridane et al. ., 2006**)

IV. Estimation du pouvoir anti-radicalaire par la méthode au DPPH

IV.1Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**). Le test a été utilisé par Blois (1958).

On peut résumer la réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH sous la forme de l'équation (Lounis et khalfalah, 2005)



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (fig.11)(Brand-William *et al.*, 1995).

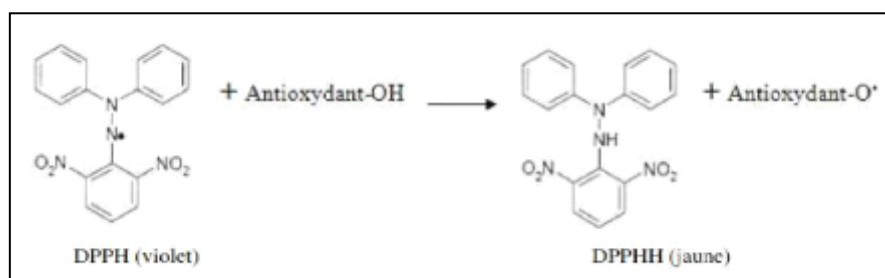


Figure 11 : Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).

IV.2 Mode opératoire

1ml de solution méthanolique de DPPH est ajouté à 1ml de la solution d'extrait, le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. (Cristina *et al.*, 2009).

Le témoin négatif est composé de 1 ml de la solution méthanolique de DPPH et 1 ml de méthanol, Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard: l'acide ascorbique.

La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 517 nm.

L'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité anti radicalaire} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Les résultats sont la moyenne de deux mesures séparées \pm écart type.

➤ Calcul des IC50

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective IC50. Ce paramètre est défini

comme étant la concentration d'extrait nécessaire qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH.

L'IC50 est calculée graphiquement par la régression linéaire de graphe tracé ; pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Molyneux, 2004).

V. Activité antibactérienne

La médecine traditionnelle par les plantes jusqu'à aujourd'hui continue d'être utilisée par une grande partie de la population dans la plupart des pays en développement. Si ces utilisations sont justifiées par des effets validés sur les bactéries, les plantes pourraient être des sources de biomolécules actives exploitables. (Beddou, 2015).

Dans cette partie, nous recherchons d'étudier l'effet antibactériens de nos extraits sur 21 souches testées.

➤ Propriété des souches bactériennes

L'activité antibactérienne est réalisée sur 21 souches (cliniques et de références) de pathogénicité et de résistance aux agents antibactériens connues. Toutes les souches cliniques proviennent de l'hôpital Ibn Zohr -Guelma-, à l'exception des espèces : *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii* et *Proteus* sp qui sont procurées de l'hôpital El Hakim Okbi de la même wilaya. Le tableau suivant récapitule le pouvoir pathogène des souches sélectionnées.

Tableau 3 : souches bactériennes et pathogénicité.

Espèce	Pouvoir pathogènes
<i>Escherichia coli</i>	infections urinaires Plaies Septicémies
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infections respiratoires Infections pulmonaires et urinaires Septicémies
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Infections pulmonaires et urinaires Septicémies

Suit de tableau 3 : souches bactériennes et pathogénicité

Espèce	Pouvoir pathogènes
<i>Staphylococcus aureus</i>	infections cutanées, abcès Ostéites, Endocardites Septicémies Infections pulmonaires Intoxications alimentaires
<i>Citrobacter koseri</i>	Infections urinaires Septicémies
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Infections cutanées infections respiratoires
<i>Enterobacter clocae</i> .	Infections urinaires plaies

V.1 Culture et repiquage des souches bactériennes

Les bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus dans des tubes contenant un milieu de culture ordinaire puis incubation pendant 18 h à 37°C. La culture des bactéries faisait dans les milieux présentés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Milieux de culture utilisés.

Le Milieu	Définition	Notre Utilisation
La gélose nutritive	permet la culture de micro-organismes en microbiologie. Ce milieu est dit non sélectif car il ne permet pas de sélectionner une souche bactérienne précise.	-Repiquage -Détermination de CMB
Bouillon Nutritif	Est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes	➤ Revivification ➤ justification de la densité optique d'une suspension bactérienne à fin d'obtenir une charge de l'ordre 0.5 Mc Ferland.
Mueller Hinton	milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et toutes autres substances qui possèdent une activité antibactérienne.	➤ Contrôle négative ➤ Contrôle positive ➤ Détermination de l'effet de l'extrait sur les bactéries

V.3 Préparation des suspensions bactériennes

L'ensemble de la procédure de la préparation de l'inoculum est effectuée selon les normes proposées dans le dernier projet de la commission de la Pharmacopée européenne (EP), 2005. Des tubes à vis contenant de la gélose nutritive incliné sont ensemencés sur la surface par des bactéries, puis incubés à 37°C pendant 18-24h.

À partir de ces tube, et à l'aide d'une anse de platine quelques colonies sont prélevées et mises dans 5 ml de bouillon nutritive, cette suspension bactérienne est bien homogénéisée, puis la densité optique est lue à 660nm et justifier entre 0.08 à 0.13nm à fin d'obtenir une charge de l'ordre 0.5 Mc Ferland.

V.2 Mode d'ensemencement des souches bactériennes

Afin de réaliser les tests du control positif et négatif, ainsi que l'aromatogramme, l'ensemencement doit se faire au moins 15 min après la préparation de l'inoculum. À l'aide d'un écouvillon stérile chargé de la suspension bactérienne, on étale la surface entière de la gélose MH à deux reprises dont le but d'avoir une distribution homogène de l'inoculum.

V.3 contrôle négatif

Après ensemencement du MH par la suspension bactérienne (0.5 Mc Farland), des disques stériles de papier Whatman N⁰ 1 de 6 mm de diamètres sont déposés en surface, par la suite un volume de 20 µl du solvant (méthanol à 85%) est déposé sur les disques, les boite ainsi, sont incubées durant 24 heures à 37°C. Après incubation, les diamètres d'inhibitions formés sont mesurés. 2 répétitions sont réalisées pour chaque diluant (**Lesueur *et al.*, 2007**).

V.4 Antibiogramme ou contrôle positif

A l'aide d'une pince stérile, des disques d'antibiotique (Chloramphénicol 30µg, Amoxiclave 30µg, Gentamycine 30µg, vancomycine 30 µg) sont déposé à la surface de la gélose MH ensemencée par les différentes souches sélectionnées, par la suite les boites sont incubées 24h à 37°C, après incubation, les diamètres d'inhibitions formés sont mesurés et comparés aux diamètres critiques, 2 répétitions sont réalisées pour chaque antibiotique. (**Hussain *et al.*, 2010**).

Tableau5: Diamètres critiques des antibiotiques utilisés (SFM,2012)

Antibiotiques	Charge des disques	Diamètre critiques	
		Sensibles	Résistantes
Chloramphénicol	30	≥ 21	≤14
Amoxiclave	30	≥17	≤ 17
Gentamicine	30	≥ 16	≤14
Vancomycine	30	≥23	≤19

V.5 Potentiel antibactérien de *Cornulaca monacantha*

L'activité antibactérienne de l'extrait de la plante est évaluée par deux méthodes de référence:

- La technique de diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques).
- La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer les Concentrations minimales Inhibitrices (CMI).

V.5.1 Technique de diffusion sur gélose Muller Hinton (méthode des disques)

La technique retenue est celle de (Bauer *et al.*,1966) rapportée par (Vilas et Kamble, 2012) avec quelques modifications. L'extrait méthanolique de la plante a été solubilisé dans le méthanol (85%) ou le DMSO à une concentration de 100%. A partir d'une culture pure fraîchement préparée obtenue après 24h à 35°C, une suspension standardisée est préparée. Après ensemencement, des disques stériles de 6 mm de diamètre chargés de 20 µl d'extrait testé par deux concentrations (10et30 mg/ml) ont été déposés à la surface du milieu MH coulé en boîte de Pétri (des répétitions ont été faites à raison de 3 disques par boîte).Ces boîtes sont laissées 2 h au réfrigérateur, puis incubées à 37°C pendant 24 h.

➤ Lecture

L'activité antibactérienne de l'extrait testé est visualisée par apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Cette zone d'inhibition est mesurée en mm (fig.12).

La lecture des résultats est faite comme suite (Djabou *et al.*, 2013).

- Résistante (-) : diamètre ≤ 6mm
- Modérément sensible (+) : diamètre compris entre 7 et 14mm.

- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre \geq 20mm.

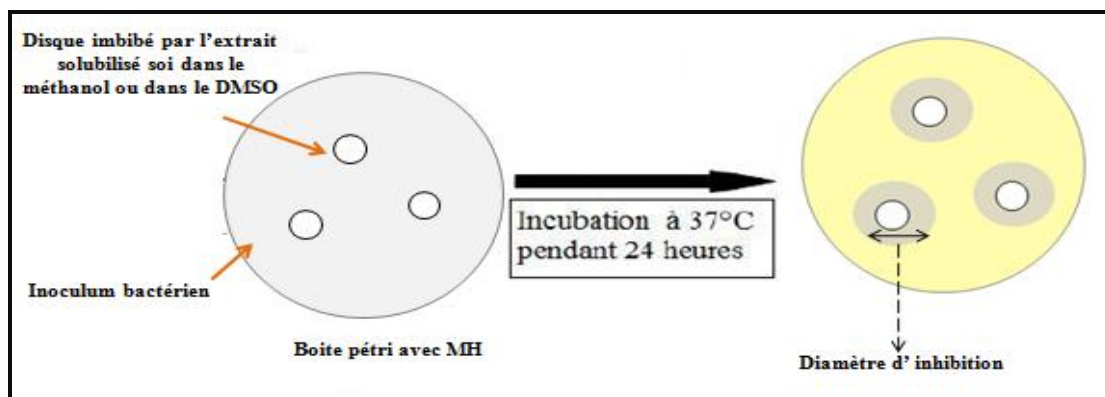


Figure 12: la méthode diffusion sur gélose Muller Hinton.

V.5.2 Méthode de microdilution en milieu liquide

La microplaque à 96 puits permet de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait végétal. Dans les puits des colonnes 1 à 10, nous introduisons 100 μ L de (bouillon nutritif (BN) + suspension bactérienne), puis nous ajoutons 100 μ L de l'extrait végétal (30mg/ml) dans le 1^{er} puit, nous procédons à des dilutions de 100 μ L de puits à puits à partir du 1^{er} puits, à l'aide d'une micropipette. Les deux derniers puits représentent les témoins (11^{ème} puit est le témoin négatif avec 100 μ L méthanol à 85 % et 100 μ L de suspension. Tandis que, le 12^{ème} puit représente le témoin de stérilité qui contient 100 μ L extrait 30(mg/ml) et 100 μ L méthanol à 85% (fig.13). Les microplaques couvertes sont incubée à 37°C pendant 18 à 24 heures. (EUCAST, 2003).

➤ Lecture

L'interprétation des résultats est effectuée en fonction de l'absence ou de la présence de turbidité dans chaque cupule. La CMI est donc la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible des germes étudiés à l'œil nu (EUCAST, 2003).

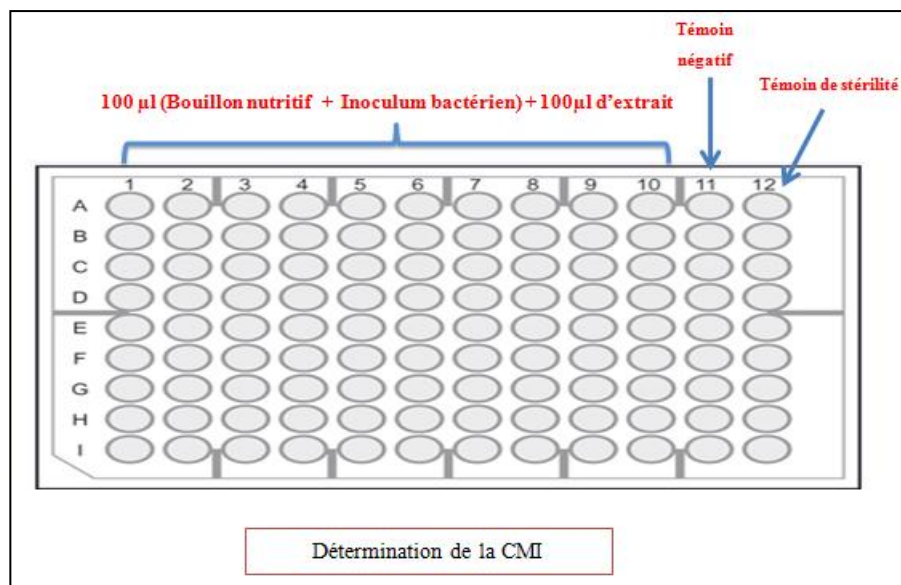


Figure 13 : Détermination de la CMI par la méthode de micro dilution en milieu liquide.

V.5.2.1 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'une substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. À l'aide d'une anse calibrée à 2µl, les contenus des puits dans lesquels aucun trouble n'a été observé ont été prélevés et ensemencés sur une gélose nutritive en commençant par le puit de la CMI. L'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose. Les cupules des témoins positif et négatif ont également été ensemencées sur le même milieu gélosé pour s'assurer de l'absence d'une croissance bactérienne. Après 24 h d'incubation à l'étuve à 37 °C. La CMB de nos extraits est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie (fig.14). (Licina *et al.*, 2013)

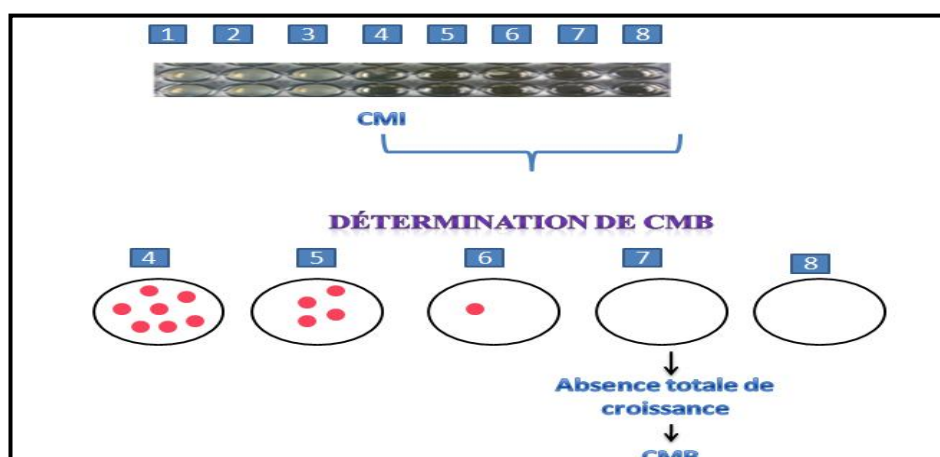


Figure 14: Exemple de détermination de la concentration minimale bactéricide.

➤ **Caractère bactéricide et bactériostatique**

Pour définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'une substance, il est possible de calculer le rapport CMB/ CMI. Si le rapport est inférieur à 4, l'extrait est considéré bactéricide (**Guinoiseau, 2010**).

Pour d'autres auteurs si les valeurs de CMB sont équivalentes aux valeurs de CMI cela implique que l'effet est **bactéricide**, et si les valeurs de CMB sont plus élevées aux valeurs de CMI cela signifie que l'effet est **bactériostatique** (**Cosentino et Tuberoso, 1999 ;Randrianarivelo, 2010**).

Chapitre 04 : Résultats et Discussions



I. Résultat du criblage phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaire au niveau des tissus de la plante de *Cornulaca monacantha* Delil .La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et un changement de couleur (**Kanoun, 2011**).

Le tableau, ci-dessous, présente les résultats obtenus au terme des tests préliminaires pour le criblage phytochimique des 2 parties : aérienne et racinaire de l'espèce *Cornulaca monacantha*.

Tableau 6 : Résultats du screening phytochimique de l'espèce végétale sélectionnée.

Métabolites secondaires	Partie aérienne	Partie racinaire
Alcaloïdes	-	NR
Flavonoïdes	++	++
Tanins	+++	NR
Coumarines	+++	++
Saponosides	+++	NR
Stérols et tréterpens	++	++
Glucosides	+++	+++
Mucilages	-	NR

(+) Présence,(++) Présence moyenne, (+++) Forte Présence,(-) absence.(NR) : non réalisé

L'examen phytochimique réalisé sur les parties aérienne et racinaire de *Cornulaca monacantha* révèle une composition similaire dans les 2 compartiments illustrée par la présence en force des : coumarines, saponosides, flavonoïdes. Tandis que les tanins galliques, stérols et tritépènes, et glucosides sont moyennement présents. Une absence des mucilages et d'alcaloïdes est toutefois signalée.

La nature des principes chimiques mis en évidence par le criblage phytochimique laisse prévoir des activités pharmacologiques intéressantes de la plante étudiée.

Il s'agit essentiellement:

- **Saponosides** : en quantité importante confère aux plantes des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires (**Roux *et al.*, 2007**).

- **Flavonoïdes** : ils constituent un groupe de substances très importantes qui présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés antioxydante, antivirale, antibactérienne, tinctoriale, les prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, et cosmétiques (**Pietta, 2000**).

- **Les tanins** : sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides. Ils ont aussi la propriété de tanner la peau par création de liaisons entre les molécules de tanins et les fibres de collagène (**Smythies, 1998**). Ces tanins permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Iserin, 2001**).

Notre criblage phytochimique est en accord avec les résultats d'un screening phytochimique effectué sur la même espèce collectée des terres de l'Arabie Saoudite, sauf exception des alcaloïdes qui ont été détectée par rapport à la nôtre (**Al-Yahya *et al.*, 1983**). De même l'étude de Kandil et ses collaborateurs (2001) rajoute que la partie aérienne de *Cornulaca monacantha* est composée principalement de flavonoïdes, tanins, tritépènes et glycosides.

II. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction à partir de 250g du matériel végétal de la partie aérienne et 24g de la partie racinaire de *Cornulaca monacantha*, ainsi que le poids du résidu obtenu sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 Rendement de l'extraction.

Le résidu	Partie aérienne	Partie racinaire
Rendement (%)	4,54	0.05
Rendement (g)	11.36	1.20

L'extrait méthanolique de la poudre de *Cornulaca monacantha* a donné un rendement de l'ordre de 11.36g, ce qui correspond à un pourcentage de 4.54 % pour la partie aérienne et un rendement égal à 1.20g, correspondant à un taux de 0.05%. Cependant, les rendements des extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction du solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant, et aussi peut être due à la différence des techniques d'extractions (Lee *et al.*, 2003).

III.1 Résultat du dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de notre extrait a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. (Djeridane *et al.*, 2010). Dont le but est l'estimation des quantités en polyphénols présentes dans la plante. Cette méthode est avantageuse pour les raisons suivantes ; c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, la disponibilité du réactif de Folin et la méthode qui est bien standardisée, la grande longueur d'onde (765nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (Huang *et Prior*, 2005).

La courbe d'étalonnage (fig. 15) montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités des polyphénols correspondantes d'extrait ont été es en équivalent gramme d'acide gallique.

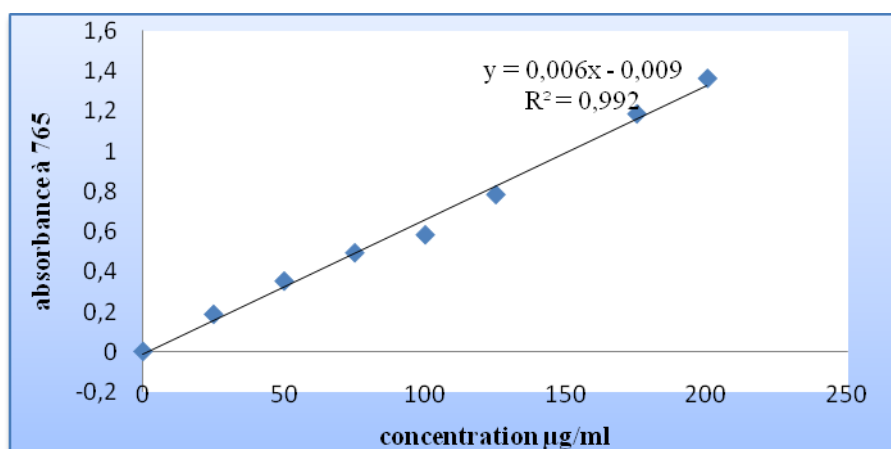


Figure 15: Droite d'étalonnage de l'acide gallique.

partie aérienne de la plante. Ce résultat montre que *Cornulaca monacantha* est moyennement riche en composés phénoliques.

III.2 Résultat du dosage des flavonoïdes

Les absorbances des différentes concentrations de l'extrait hydro-méthanolique de *Cornulaca monacantha* lues, en utilisant la quercétine comme standard, nous a permis de tracer une courbe d'étalonnage présentant ainsi, l'équation :

$$Y=0.042x+0.039$$

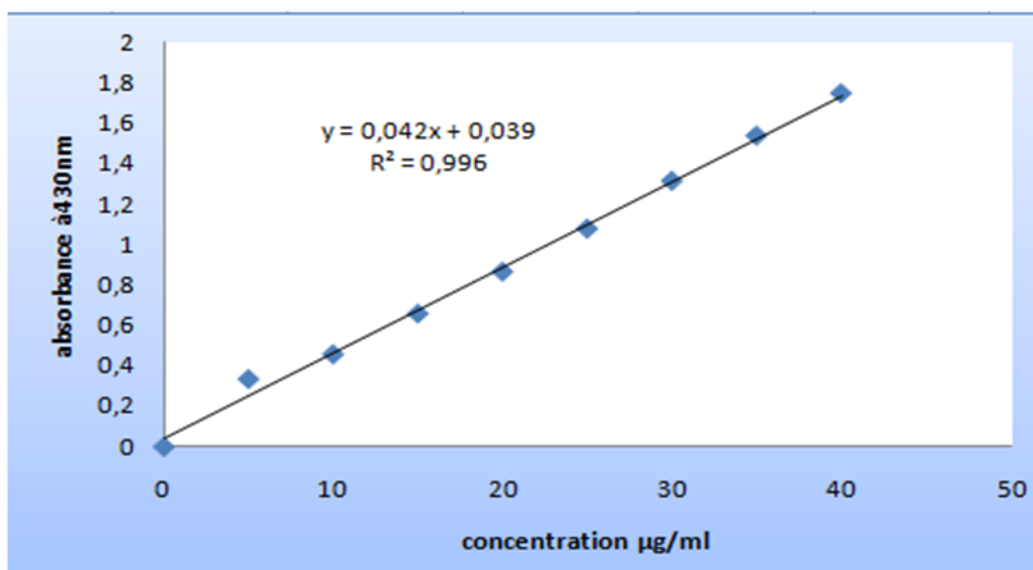


Figure 16: Droite d'étalonnage de la quercétine.

À partir de cette courbe (fig. 16), une teneur de flavonoïdes équivalente à 6.82 ± 0.04 mg EQ/g d'extrait a été déterminée.

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés polyphénoliques montrent que la plante *C.monacantha* est moyennement riche en polyphénols. Jusqu'ici peu d'études ont été réalisées sur la quantification des polyphénols dans les extraits du *C.monacantha*. En revanche, Rechad (2009) rapporte que la teneur en polyphénols de *Fredolia aretiodes* espèce appartenant à la même famille des *Chenopodiaceae* est plus importante que les nôtre, où la valeur calculée est de l'ordre de 110.92mgEAG/g d'extrait.

Pour les flavonoïdes *F.aretiodes* présente plus que le double (16.98 mg EQ/g d'extrait) par rapport à ceux relevés (6.82 mg EQ/g d'extrait) dans la partie aérienne

de *C.monacantha*. Cette variation quantitative du contenu polyphénolique et flavonoïque entre les deux plantes peut être liée aux facteurs climatiques

Et environnementaux comme la zone géographique, la sécheresse et le sol. (Ebrahimi *et al.*, 2008), le stade de développement de la plante, la méthode d'extraction et de quantification peuvent également influencer la teneur en phénols totaux et flavonoïdes (Lee *et al.*, 2003). D'autres études récentes montrent que les facteurs génétiques et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols et flavonoïdes (Podsdek, 2007).

Il convient de dire bien que les teneurs en composés phénolique constituent un facteur de valorisation de la capacité antioxydante des espèces végétales, la qualité de ces molécules serait beaucoup plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de leurs propriétés biologiques (Bettaieb *et al.*, 2016).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

La méthode au DPPH a reçu la plus grande attention en raison de sa rapidité, sensibilité, commodité et de sa reproductibilité et plus fréquemment appliquée pour l'évaluation préliminaire du potentiel antioxydant de diverses substances naturelles. (Nur Alam *et al.*, 2013).Après mesures spectrophotométriques, les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes (fig.17) ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur de l'IC50 (EC50) pour notre extrait. Plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'extrait possède une bonne activité antioxydante.

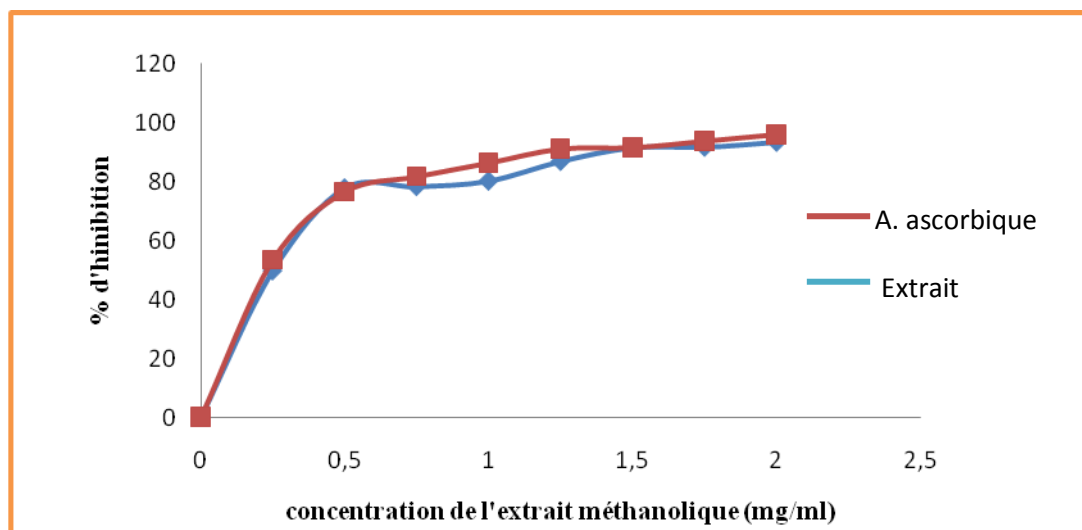


Figure 17 : effet antiradicalaire de *C.monacantha* sur le radical DPPH.

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *C.monacantha* a montré un pouvoir antioxydant important en comparaison avec la vitamine C. Ceci est montré par l'allure de graphe qui correspond à une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire qui définit la réduction presque totale du radical DPPH en sa forme non radicalaire. A une concentration de 2mg/ml, le pourcentage de réduction du DPPH est de 93.32% contre 96.10 %relevé pour l'acide ascorbique. L'IC50 calculée présente une valeur de 0.5 mg/ml

Nos résultats relatifs à cette activité sont meilleurs par rapport à ceux rencontrés dans l'étude d'Ibrahim (2011) réalisées en Egypte, qui montre un pourcentage antiradicalaire de 41.03 En outre, Ionut (2016) rapporte que *Cornulaca monacantha* est une plante qui n'a presque pas d'activité antioxydante, il est important de signaler que son échantillon collecté de la Tunisie est soumis à des conditions expérimentales différentes. Chimi et ces collaborateurs (1991) ont démontré que les composés polyphénols se dégradent avec le temps et la température et par conséquent, il y aura une diminution de leur activité antioxydante.

Par ailleurs, La forte activité d'un extrait est attribuée à sa richesse en composés phénoliques. Cet extrait contient plusieurs molécules bioactives telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les tannins. En effet, une étude réalisée par Kang et al.,(2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antioxydante.

V. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans cette étude, nous avons examiné l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Cornulaca monacantha* contre 21 souches bactériennes appartenant à des espèces différentes par la méthode de diffusion en milieu gélosé et par une technique de microdilution dans le but de définir une CMI.

V.1 Test du DMSO et/ou Méthanol

Le test négatif réalisé avec le DMSO testé par deux concentrations (10% ,100%) et le méthanol à 85% sur les 21 souches bactériennes montre que ces solvants n'ont aucun pouvoir antibactérien sur ces micro-organismes.

V.2 Antibiogramme

Les résultats de l'antibiogramme effectué afin de connaître les comportements des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8: Résultats d'un antibiogramme

Souche testées	Diamètres d'inhibition (mm)			
	Chloramphénicol	Gentamicine	Amoxiclave	Vancomycine
<i>Acinetobacter baumannii IH</i>	24±0	11±0	0	0
<i>Acinetobacter baumannii IF</i>	10±0	6±0	0	0
<i>Citrobacter koseri IH</i>	4± 4	14±0	0	9±0
<i>Citrobacter koseri P</i>	29±0	8±0	0±0	4,5± 0.5
<i>E. coli IH</i>	0	11±0	0	7±0
<i>E. coli IF</i>	0	11,5± 0.5	0	0
<i>E. coli ATCC 25922</i>	25±0	14±0	0	0
<i>Enterobacter cloacae IH</i>	24±0	9±0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	25±0	11±0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	7±0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae IU</i>	24±0	10±0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae P</i>	0	7±0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	24±0.5	20±0	0	0

<i>carbapenemase</i>				
<i>Proteus sp.</i>	0	15	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa IH</i>	8	25±0.5	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa IF</i>	20	19±0	0	0
<i>S. aureus P</i>	24±0.5	21±0	0	0
<i>S. aureus ATCC 25923</i>	0	13 ± 0.5	0	0
<i>S. aureus ATCC 43300</i>	0	25±0	0	10±0
<i>S. aureus IU</i>	23±0	11±0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	28±0	12±0	0	0

On remarque que la série d'ATB testée a un effet variable sur les souches cibles, ils ont un effet inhibiteur sur certaines et sont soumis à une résistance avec d'autres. En se basant sur les diamètres critiques, on peut dire que :

- L'ensemble des souches s'est avéré résistant à l'égard de l'amoxiclave et la vancomycine.
- Le chloramphénicol exerce un effet puissant sur toutes les souches, à l'exception de : *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli IH*, *Escherichia coli IF*, *Pseudomonas. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *S. aureus ATCC 25923*, *S. aureus ATCC 43300*, *Citrobacter koseri IH* *Proteus sp.* et *Klebsiella pneumoniae P*
- Sur la totalité des souches testées, seulement : *Klebsiella pneumoniae IH* *klebsiella pneumoniae carbapenemase*, *Pseudomonas aeruginosa IH*, *Pseudomonas aeruginosa IF*, *S. aureus* et *S. aureus ATCC 43300* sont sensibles vis-à-vis de la gentamicine.

Ces mécanismes de réponse différentiels entre les souches cibles vis-à-vis des antibiotiques dépendent principalement de l'état cellulaire de la bactérie.

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique de la famille des phénicol qui agit principalement sur les bactéries à Gram+ et Gram-, la résistance à l'égard de cette antibiotique est due à l'imperméabilité de la membrane extérieure (pour les bactéries à Gram négatif) ou la membrane cytoplasmique (pour toutes les bactéries).

Pour la Gentamicine, ce bactéricide de la famille des Aminosides et Aminocyclitol agit principalement sur les bactéries à Gram+ (*Staphylococcus aureus* méti-R , *Staphylococcus aureus* méti-S) et Gram⁻.

V.3 Résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *C. monacantha* sur les souches testées

L'étude *in vitro* du pouvoir inhibiteur de l'extrait hydro- méthanolique a été aussi bien qualitative par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et quantitative par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

V.3.1 Méthode de diffusion sur disque

L'essai de l'activité antibactérienne de *C. monacantha* évaluée par la méthode de diffusion sur disque, nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des extraits.

Tout d'abords les extraits ont été testés avec une concentration initiale de 10 mg/ml du méthanol et/ou le DMSO sur les souches sélectionnées, par la suite on a constaté d'une part de faibles diamètres d'inhibition pour la majorité des souches et la résistance de d'autres, raison pour laquelle on a augmenté la concentration à 30 mg/ml, et d'autre part, les extraits dissous dans méthanol montrent un meilleur effet antibactérien par rapport à ceux solubilisés dans le DMSO. Les figures ci-dessous montrent les différents diamètres d'inhibitions issues du pouvoir antibactérien des 2 compartiments de la plante.

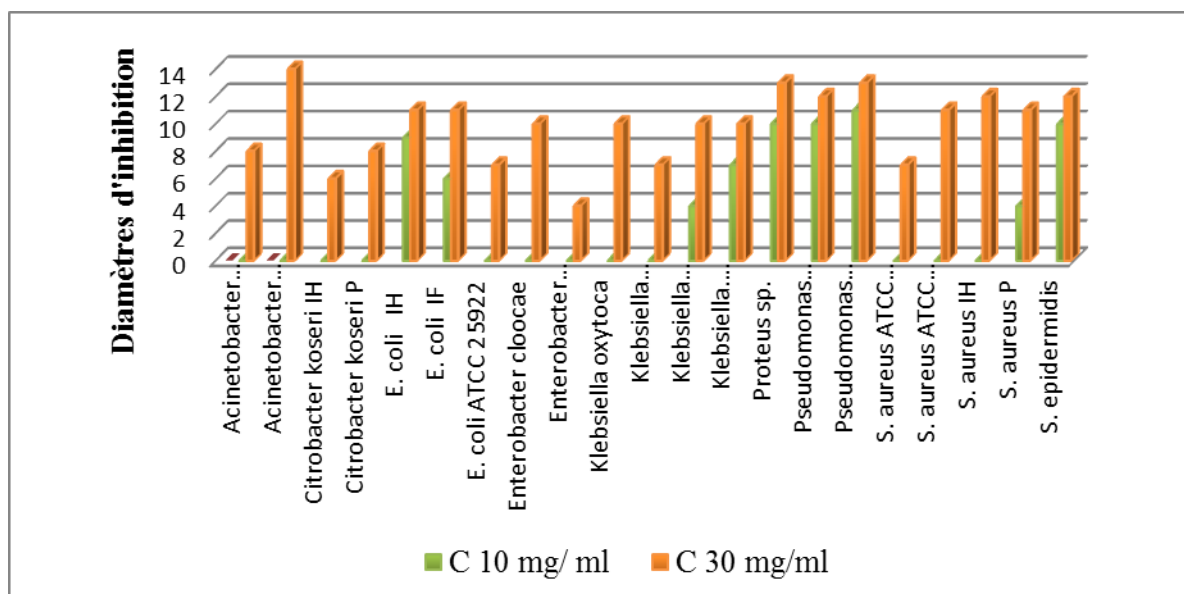


Figure 18: Présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extrait de la partie aérienne de *C. monacantha*.

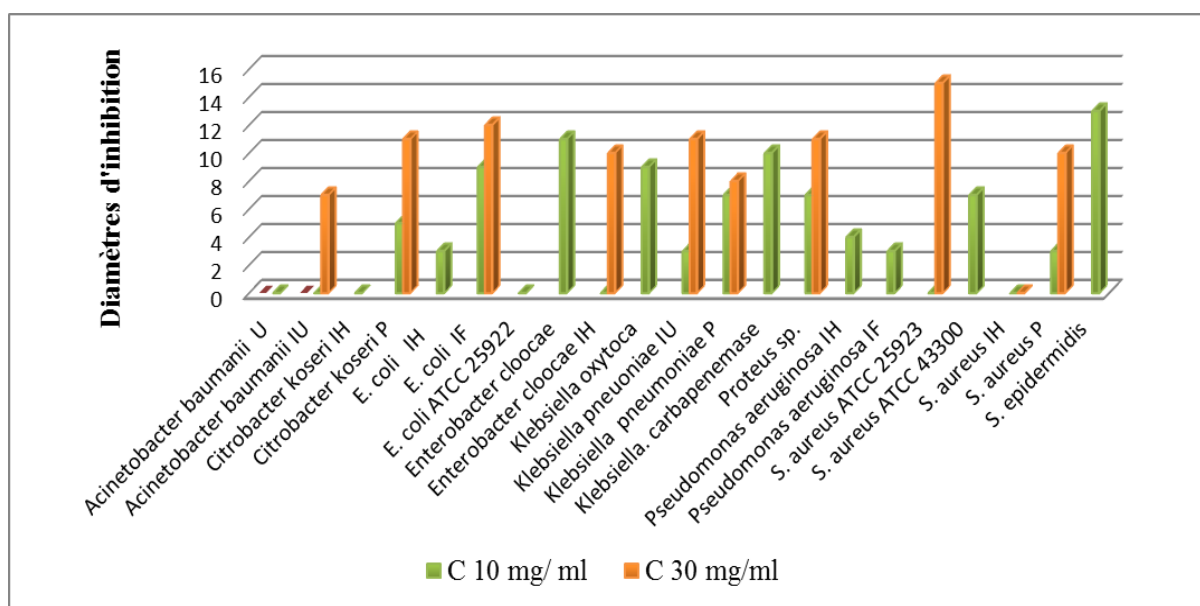


Figure 19: Présentation graphique de l'activité antibactérienne de l'extrait la partie racinaire.

D'après ces présentations graphiques, on remarque que l'extrait hydro-méthanolique de la partie aérienne testé à une concentration de 30 mg/ml montre l'effet le plus puissant sur l'ensemble des souches, à l'exception des deux espèces : *Enterobacter cloacae IH* et *Escherichia coli IF* qui se montrent résistantes.

A l'égard de l'extrait de la partie racinaire, le nombre de souches résistantes augmentent à 12 espèces, seule *S. aureus ATCC 25953* présente une sensibilité (15 mm).

L'activité inhibitrice des deux extraits vis-à-vis des souches est probablement liée à leur richesse en polyphénols qui peuvent être qualifiés comme des molécules antibactériennes. Sur la base des résultats obtenus nous pouvons dire que les deux extraits de *C. monacantha* possèdent une activité antibactérienne assez importante vis-à-vis des bactéries testées.

Il faut signaler que les connaissances actuelles sur *C. monacantha* sont très limitées. Nos résultats déterminés constituent donc un gain pour une exploitation meilleur de la présente espèce.

V.3.2 Méthode de microdilution en milieu liquide

A partir de la série de dilution en milieu liquide contenant la gamme de concentration allant de 0.029 à 15mg/ml de l'extrait de *C.monacantha*, une concentration pour chaque souche a permis l'obtention d'un puit claire traduisant l'inhibition de la croissance bactérienne.

V.3.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI, CMB)

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits aérien et racinaire de *Cornulaca monacantha* testés vis-à-vis des bactéries sont présentés dans le tableau ci-dessous. En effet, les concentrations minimales inhibitrices des extraits varient de 3.75 à 15 mg/ml. On peut distinguer que *S. aureus ATCC 358*, *S.aureus P13*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa IF*, *Citrobacter koseri*, *S.aureus ATCC43300* et *S.epidermidis* sont les souches les plus sensibles à faible dose de 3.75 mg/ml, suivie de *Kelbsiella pneumoniae IU* *Citrobacter koseri P* *Pseudomonas aeruginosa IH* *Acinetobacter baumannii IF* , *E,coli* ,*Klebsiella pneumoneae IU* et *S,aureus ATCC25923* avec des CMI de l'ordre de 7.5 mg/ml.

L'extrait racinaire testé seulement sur les souches : *Pseudomonas aeruginosa IF*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa IH*, *Citrobacter koseri IH* *E. coli*, *Acinetobacter baumannii IH*, *S.aureus ATCC 43300*, *E. coli ATCC 25922* et *S. epidermidis* montre une CMI de 7.5 mg/ml. Tandis que pour l'espèce *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* la CMI est équivalente à 15 mg/ml.

Pour la CMB, les résultats montrent une activité minimale bactéricide sur les souches : *S. aureus P*, *S. aureus ATCC 43300*, *S. aureus IU*, *Enterobacter cloocae IH*, *Acinitobacter baumannii IF*, *Pseudomonas aeruginosa IF*, *Citrobacter koseri IH*, *S. epidermidis* à une valeur de 3.75mg/ml. Par ailleurs, la croissance de *Klebsiella pneumoniae IU*, *Citrobacter koseri IH*, *Pseudomonas aeruginosa IH*, et *E. coli IU*, est arrêtée à une valeur de 7.5mg/ml.

Pour l'extrait racinaire, la CMB la plus intéressante est marquée avec l'espèce *Citrobacter koseri P* dont une valeur de 3.75mg/ml est notée.

Les rapports CMB/CMI des deux extraits montrent de valeurs inférieures à 4, ce qui confirme leur action bactéricide contre l'ensemble des micro-organismes.

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antibactérien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires et l'interaction avec les enzymes (Dhaouadi *et al.*, 2010).

Tableau 9 : Résultats des CMI et CMB des extraits de *C. monacantha*.

Les souches	CMI (mg/ml)		CMB (mg/ml)		CMB/CMI (mg/ml) Aérienne	CMB/CMI (mg/ml) Racinaire	Interprétations
	Partie aérienne	Partie racinaire	Partie aérienne	Partie racinaire			
<i>Acinitobacter baumannii IF</i>	3.75	NR	3.75	NR	1	NR	Bactéricides
<i>Acinitobacter baumannii IH</i>	7.5	7.5	ND	ND	ND	ND	Bactéries tolérante
<i>Citrobacter koseri IH</i>	7.5	NR	7.5	NR	1	NR	Bactéricides
<i>Citrobacter Koseri P</i>	3.75	7.5	3.75	7.5	1	1	Bactéricides

<i>E.coli ATCC 25922</i>	ND	7.5	ND	7.5	ND	ND	Bactéries tolérante
<i>E.coli IH</i>	7.5	7.5	7.5	7.5	1	1	Bactéricides
<i>E.coli IF</i>	NT	NR	ND	NR	ND	NR	Bactéries tolérante
<i>Enterobacter cloacae</i>	3.75	NR	3.75	NR	1	NR	Bactéricides
<i>Enterobacter cloacae IH</i>	ND	NR	ND	NR	ND	NR	Bactéries tolérante
<i>Klebsiella pneumoniae Carbapnemase</i>	ND	15	ND	7.5	ND	0.5	Bactéricides
<i>Klebsiella pneumoniae IU</i>	7.5	NR	7.5	NR	1	NR	Bactéricides
<i>Klebsiella pneumoniae p</i>	15	NR	15	NR	1	NR	Bactéricides
<i>Klebsiella, Oxytoca</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	Bactéries tolérante
<i>Proteus SP</i>	NT	NR	ND	NR	ND	NR	Bactéries tolérante
<i>Pseudomonas aeruginosa IF</i>	3.75	7.5	3.75	7.5	1	1	Bactéricides
<i>Pseudomonas aeruginosa IH</i>	7.5	7.5	7.5	7.5	1	1	Bactéricides
<i>S. aureus ATCC 43300</i>	3.75	ND	ND	ND	ND	ND	Bactéries tolérante
<i>S. aureus P</i>	3.75	NR	3.75	NR	1	NR	Bactéricide
<i>S. epidermidis</i>	3.75	7.5	ND	ND	ND	ND	Bactéries tolérante
<i>S.aureus ATCC 25923</i>	15	NR	15	NR	1	NR	Bactéricides
<i>S.aureus IU</i>	3.75	NR	3.75	NR	1	NR	Bactéricides

(ND) non déterminé

(NR) non réalisé



*Conclusion et
perspectives*

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs, et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale.

Le présent travail renfermant l'étude de la composition chimique et l'évaluation des activités biologiques à savoir antioxydante et antibactérienne de l'espèce médicinale *Cornulaca monacantha* utilisée comme médicament traditionnel contre les problèmes de jaunisse et de foie, et utilisée aussi pour traiter la gale, nous a permis de tirer les résultats suivants :

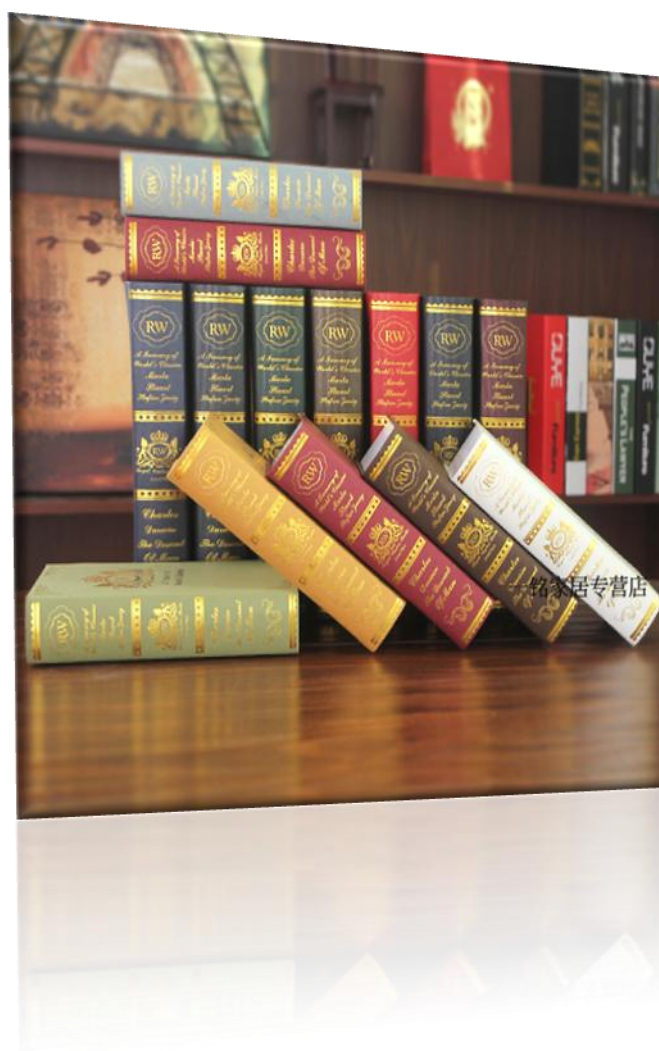
- Une composition chimique comportant principalement des : flavonoïdes, tannins, saponosides, coumarines, stérols et triterpènes ainsi que des glucosides dans les deux parties (aérienne et racinaire) de la plante. Une absence des alcaloïdes et des mucilages est marqué dans les tissus de cette espèce.
- L'étude quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait de la partie aérienne de *Cornulaca monacantha* montre des teneurs respectives de 64.03mg/ml et 6.82mg/ml en polyphénols totaux et en flavonoïdes.
- L'évaluation de l'activité antioxydante effectuée par le piégeage du radical libre le DPPH. démontre que l'extrait est doté d'une activité antiradicalaire importante (96.1%) avec une CI50 de l'ordre de 0.3 mg/ml.
- Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de *Cornulaca monacantha* testée sur 21 germes par la méthode de diffusion sur disque. montre que l'espèce exerce un effet puissant sur la majorité des bactéries, sauf exception des souches : *S. aureus P*, *S. aureus IU* et *S. aureus ATCC 25923*.
- Le rapport CMB/CMI estimé, démontre le pouvoir bactéricide de *Cornulaca monacantha* sur l'ensemble des souches. Seules les espèces : *Acinitobacterbaumanii IU*, *Enterobacter cloocaeIH*, *Klebsiella*, *Oxytoca*, *Proteus SP*, *S. aureus ATCC43300*, *S. epidermidis* sont tolérantes.

Notre étude permet de déduire que la plante médicinale *C. monacantha* est riche en composés métaboliques et présente une bonne activité antioxydante et antibactérienne, ceci ouvre le portail sur une large exploitation dans le domaine pharmaceutique

Afin de compléter cette étude, il serait intéressant de :

- Caractériser et isoler les principes actifs responsables de ces propriétés pharmacologiques.
- Evaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne *In vitro* sur des cultures cellulaires ou des cellules isolées de l'organisme pour confirmer les résultats obtenus.
- Elargir le panel des activités de la plante *In vitro* et *In vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques : antidiabétique, anticancéreuse et anti-inflammatoire.

Références bibliographique



Références bibliographiques

- **Abayomi Sofowora,(2010)**. Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Kartahala Edition Amazon France p15.
- **Abeer Y. Ibrahim, Khaled Mahmoud, Salwa M. El-Hallouty,(2011)**. Screening of Antioxidant and Cytotoxicity Activities of Some Plant Extracts from Egyptian Flora. Journal of Applied Sciences Research.[enligne].7(7). Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/236367139_Screening_of_Antioxidant_andCytotoxicity_Activities_of_Some_Plant_Extracts_from_Egyptian_Flora
- **AlJaber, Nabila, A.A. Mujahid, Tasneem, G. Al-Hazimi, Hassan, M.G. (1991)**. Pentacyclic triterpenoids from *Cornulacamonacantha*. Journal of the Chemical Society of Pakistan, 13(1), 53-6.
- **AlYahya M.A., Al Meshal I.A., Mossa J.S., Khatibi A. and Hammouda Y.(1983)**. Phytochemical and Biological Screening of Saudi Medicinal Plants: Part II. Fitoterapia, 54, 21 – 24.
- **Atawodi S. E. (2005)**. Antioxidant potential of African plants. African J. of Biotech.4 (2): 128-133.
- **Ayad, R. (2008)**. Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygodium cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39,40, 47.
- **Baba Aissa F., (2000)**. Encyclopedie des plantes utiles. Ed. Librairie moderne, Rouiba,
- **Babaamer, Z. Y., Sakhri, L., Al-Jaber, H. I., Al-Qudah, M. A., Abu Zarga, M. H,(2012)**. Two new taraxasterol-type triterpenes from *Pergulariatomentosa* growing wild in Algeria. Journal of Asian Natural Products Research, vol.14, n° 2, pp. 1137-1143.
- **Badiaga, M. (2011)**. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de Doctorat.
- **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. et Pinkas M. (1996)**. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Journal of Arzneim-Forsch drug Research*. 46: 1086-1108
- **Bauer AW., Kirby WMM., Shrris JC., Turck M., (1966)**. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496
- **Beddou Fawzia, (2015)**. Etudes phytochimique et activité biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Remouxvesicarius* L. et *Anvillea radiata* Cass. & Université Abou Bekr Belkaid. P 36

Références bibliographiques

- **Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989)** Bactériologie: bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences Flammarion.
 - **Berkal Garmia Et Bouchama Sarra, (2016)** Etude phytochimique et activités
 - **Berube-Gagnon J ,(2006)**, Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de Picea mariana, Thèse de doctorat à l'université de Québec.
 - **Bettaieb Rebey, L., Sriti, J., Besbes, B., Makhaddmini Hammi, I., Hamrouni, A., Sllami, B., Marzouk, B. and Ksouri, R. (2016)**. Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes des grains de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill), *Journal of New Sciences*. 27(4). pp1478-1487.
- Biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbia characias* L. Université des Frères Mentouri Constantine.
- **Boizot N et Charpentier ,J.-P(2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier ; *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, numéro spécial. p 79-82.
 - **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. (2004)**. New lanthanide complexes of 4-methyl 7-hydroxycoumarin and their pharmacological activity, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. P 50, 120-123.
 - **Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F.; Felinger, A. (2010)**. Determination of polyphenolic compound by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980.
 - **Bouakaz, I. (2006)**. Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*, Mémoire de magister.
 - **Boudjouref Mourad (2011)**. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Université Ferhat Abbas, Sétif..
 - **Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and Berset C. (1995)**. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28:25-30.
 - **Bruneton, J., (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Editions TEC & DOC, 3ème édition, PP 783- 785.
 - **Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. and Chern J.C. (2002)**. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10: 178-182.
 - **Chimi H., Cillard J., Cillard P. And Rahmani M. (1991)**. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 68, 307–312.

Références bibliographiques

- **Cosentino S., Tuberoso CIG.,(1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian. Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology.29 (2):130-135.
- **Cosentino S., Tuberoso CIG., (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian. Thymus essential oils. Letters in AppliedMicrobiology. 29(2): 130-135.
- **Cowan M. M.** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol. Rev. 1999; 12: 564-582.
- **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. (2003).** Natural product:
- **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajo__n E., Vilanova E., Hamdaoui M. and Fattouch. (2010).** S. Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. J. Agric. Food Chem; 59: 402-406.
- **Djabou N., Lorenzi V.,Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani MC., Desjobert JM., BollaJM., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A., (2013).** Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxic-infectious pathogens. Food Control.30: 354-363.
- **Djeridane A., Yousfi M., Brunel J. M. and Stocker P. (2010).** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from Cleome arabica in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. Food and Chemical Toxicology, 48,2599-2606.
- **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal,N.(2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, vol.97, n° 4, pp. 654-660.
- **Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A. et Yousefzadi M. (2008).** Essential oil composition and antimicrobial activity of Thymus caramanicus at different phenological stages. Food chemistry, 110: 927-931.
- **Edeogal H.O.,Okwu D.E.,Mbaebie B.O(2005).**Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of biotechnology Vol. 4(7). P: 685-68.
- **Elghozi J.L., Duval D. (1992).**Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion. Paris. 289p
- **Epifano F., Genovese S., Menghini L. and Curini M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. Phytochemistry; 68: 939-953.
- **European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious diseases (ESCMID).(2003).**

Références bibliographiques

- Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and infectious*, 9 (8): 1-7.
- **Fattorusso W. ; Ritter. O. (2001).** Vademecum cliniques, Du diagnostique au traitement. 16ème édition Masson m, Italie. P 1915.
 - **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. pp: 108-115.
 - **Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. (2001).** The in vitro dermal absorption and métabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances, *Food and Chemical Toxicology*. p39, 153-162.
 - **Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008).** Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*.
 - **Gardès-Albert M, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique. pp: 91-96.
 - **Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V. (2003).** Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci*. 5 (2):5p.
 - **Giazi, F. (1996).** La Réserve Naturelle Nationale de l'Aïr et du Ténéré (Niger): la connaissance des éléments du milieu naturel et humain dans le cadre d'orientations pour un aménagement et une conservation durables : analyse descriptive. [en ligne]. IUCN. Disponible sur : <https://books.google.dz/books?id=RepU0YzjFaUC&pg=PA636-IA12&dq=cornulaca+monacantha+r%C3%A9partition+g%C3%A9ographique&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKEwiEv5KhwsjbAhWpJsAKHdcBC3UQ6AEIjAA#v=onepage&q=cornulaca%20monacantha%20r%C3%A9partition%20g%C3%A9ographique&f=false>
 - **Guignard, J.L. (1998).** Abrégé de botanique, Masson (Ed). Paris. 212p.
 - **Guillouty (2016).** Amandine Plantes médicinales et antioxydants Université Toulouse Iii Paul Sabatier. Faculte Des Sciences Pharmaceutiques P 26,27, 29.
 - **Guinoiseau E., (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, Identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de corse, France. P 114.
 - **Guinoiseau E., (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de corse, France. P 114.

Références bibliographiques

- **Halmi, S. (2015).** Etude botanique et phytochimique approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus, diplôme de doctorat, biotechnologie végétale. p17, 25.
- **Hamza T (1993).** Introduction à la biologie moderne. Berti Editions.
- **Hartmann, T., (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. Phytochemistry 68 2831–2846.
- **Hashem.A, Khalid A. Al-Kheraije,(2013).** Chemically Modified *Cornulacamonacantha* Biomass for Bioadsorption of Hg (II) from Contaminated Water: Adsorption Mechanism. Journal of Environmental Protection. [en ligne].4, 280-289
.Disponible sur :
https://www.researchgate.net/publication/276492257_Chemically_Modified_Corulaca_monacantha_Biomass_for_Bioadsorption_of_Hg_II_from_Contaminated_Water_Adsorption_Mechanism
- **Hennebelle T., Sahpaz S. and Bailleul F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothér.
- **Hoffman, L. (2003).** Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.
- **Hopkins, W. G(2003).** Physiologie végétale. 1^{ère} ed. Bruxelles : De Boeck & Larcier s. a.,
- **Huang D., Ou B., Prior RL.,(2005).**The chemistry behind Antioxidant capacity assays.J.Agric.Food.chem. 53:1841-1856.
- **Huang D., Ou B. and Prior R.L. (2005)**The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53, 1841-1856.
- **Huang Guangrong., Jiang Jiaxin.,and Dai Dehui. (2008).** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. African Journal of Biotechnol.7 (9): 1335-1338.
- **Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam P.S. (2010).** Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. Brazilian journal of Microbiology 41. P: 1070-1078.
- **Iserin P., 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparation, soin. Ed Larousse. P: 267.
- **Iserin, P, (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse.
- **IUCN.** A guide to medicinal plants in North Africa[enligne].Disponible sur :
https://books.google.dz/books?id=CBbU4Q0WYXEC&dq=cornulaca+monacantha&hl=fr&source=gbs_navlinks_s

Références bibliographiques

- **Jean-Pierre Lebrun.**(2001) Introduction à la flore d'Afrique.EditionsQuae [en ligne], .
Désponible sur :
https://books.google.dz/books?id=CBbU4Q0WYXEC&dq=cornulaca+monacantha&hl=fr&source=gbs_navlinks_s
- **Jomard (M., Edme-François), Charles Louis Fleury Panckoucke, France. Armée. Etat-Major, France. Commission des sciences et arts d'Egypte(2005)..** Description de l'Égypte: ou, Recueil des observations et des recherches qui ont été faites en Égypte pendant l'expédition de l'Armée française[en ligne] 1824.2. Impr. C.L.F. Panckoucke. Disponible sur : https://books.google.dz/books?id=919FAAAAYAAJ&dq=cornulaca+monacantha&hl=fr&source=gbs_navlinks_s
- **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P(2002).** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. 1^{ère}ed. Paris : De Boeck Supérieur.
- **Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. (2009).** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties– an Overview: Forsch Komplementmed.16: 79–90.
- **Kamel. M.S. , Othani, K., Hassanean., H.A. Khalifa, A.A. Kasai, R. Yamaskaki, K.K. (2000).**Triterpenoidalsaponins from *Cornulacamonacantha*. Pharmazie Vol. 55. pp. 460-462
- **Kandil, F.E. Grace, M.H.(2001).**Polyphenols from *Cornulacamonacantha*.Phytochemistry, vol 58.pp. 611-613.
- **Kandil,F.E.Husseiny,H.A.(1998).** A new flavonoid from *cornulacamonacantha* .Orienta J.Chem.p215
- **Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugbuaja V.O.(2004).** Identification of active principals of *M. balsamina* (balsam Apple) leaf extract. J Med Sci; 4(3). P: 179-182.
- **Kempf S. Zeitouni. (2009).**Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences Pathologie Biologie : article in press.
- **KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C., ABDELLY C., (2007).** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakilemaritima*. Plant Physiol. Biochem.,
- **Lebham, (2005).** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. et Lee C.Y.(2003).**Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. Food chemistry, 51: 7292-7295.

Références bibliographiques

- **Lesueur D., Serra D. de Rocca, Bighelli A., Hoi T.M., Ban N.K., Thai T.H., Casanova J. (2007).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Meryll ex Dandy from Vietnam *Flavour and Fragrance Journal*, 22, P: 317-321.
- **Licina BZ., Stefanovic OD., Vasic SM., Radojevic ID., Dekic MS., Comic LR., (2013).** Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L. *Food Control*.33: 498-504.
- **Lugasi A., Hovari J., Sagi K., and Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta biologica. szegediensis*. 47 (1-4):119-125. (Cited in Mohammedi Z, 2005).
- **Maisuthisakul. P.; Pasuk S. et Ritthiruangdej P. (2008).** Relationship of antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 21, pp 229-240.
- **Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10-187
- **McCalley, D.V., (2002).** Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography*
- **Mohamed M. Abd El-Maboud, (2016).** Mechanisms of Drought Tolerance in *Cornulaca monacantha* Del. *Journal of Environmental Sciences [en ligne]*.45(2). 2090-9233. Disponible sur :
https://www.researchgate.net/publication/308402077_Mechanisms_of_drought_tolerance_in_Cornulaca_monacantha_Del
- **Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, P : 155.
- **Molyneux P., (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)
- **Molyneux, P, (2004).** The use of the stable radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*..vol.26. n° 2. pp. 211-219
- **Moussaoui, F., Zellagui, A., Segueni, N., Touil, A., Rhouati, S. Flavonoid (2010).** constituents from Algerian *Launaearesedifolia* (O.K.) and their antimicrobial activity. *Records of Natural Products*, vol. 4, pp. 91-95.

Références bibliographiques

- **Nijveldt J., Van Nood E., Van Hoorn D., Boelens P., Van Norren K., Van Leeuwen P. (2001).** Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications. American journal of clinical nutrition,
- **NurAlam Md., Bristi N. J. and RafiquzzamanMd, (2013).** Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, **21**, 143–152.
- **Okmu D.E.(2005).** Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. Int J MolAdvSci; 1 (14). P: 375-381.
- **Okmu DE., (2005).**Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. Int. J.Mol.Adv.Sci. 1(14): 375-381.
- **OMS, 2012,** Rapport sur la Santé du Monde,<http://www.who.int/whr/fr>
- **Ould El Hadj.MD, M Hadj-Mahammed, H Zabeirou, A Chehma, (2003).** importance des plantes spontaneesmedicinales dans la pharmacopee traditionnelle de la region de Ouargla (Sahara septentrional - Est Algérien. *Sciences &Technologie C.[en ligne]*..20. Disponible sur : <http://revue.umc.edu.dz/index.php/c/article/view/1318/1428>
- **Pereira R. C., P. Da Gama B. A., Teixeira V. L., Yoneshigue-valentin Y. Y., Braz. J. Bio. (2003),** 63, (4), 667-672.
- **Pietta PG., (2000).**Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* 63:1035-1042.
- **Podsdek A., (2007).** Natural antioxidants capacity of Brassica vegetables. *LWT.* 40:1-11.
- **Podsdek A., (2007).** Natural antioxidants capacity of Brassica vegetables.LWT. P 40:1-11.
- **Randrianarivelo R., (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « cinnamosmafragrans », alternative aux antibiotiques en crevetti culture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo.P:45
- **Randrianarivelo R., (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique deMadagascar « cinnamosmafragrans », alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. P :45.
- **Roberts M.F. and Wink M., (1999).** Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. Book Reviews / Phytochemistry, 52, 1177 - 1180
- **Roux D., Catier O, (2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème Edition, wolters Kluwer. P 141.
- **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.
- **Sekkoum, K., Belboukhari, N., Cheriti, A(2014).** New flavonoids from bioactive extract of Algerian medicinal plant *Launeaarborescens*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, vol. 4, pp. 267-271.

Références bibliographiques

- **Skerget., Kotnik P.,hadolin.M.,hras A.R., et simonicm., knez Z.** (2005).Phenols,proanthocyanidins, flavones and flavonolsinsome plant materials and their antioxidant activities.Food chem. 89: 191-198.
- **Smythies JR., (1998)** . Every Person's Guide to Antioxidants. Ed: BRITISH CATALOGING; p: 89-110.
- **Stevenson, D. AND Hurst, R. (2007)**. Polyphenolic phytochemicals –just antioxidants or much more ?.cellular and molecular life sciences, 64(22), pp.2900-2916.
- **Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., Stöckigt, D.,(2002)**. High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary Electrophoretic – electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groupsReview Journal of Chromatography 967, 85–113
- **Svoboda, KP., Hampson, JB., (1999)**. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants : antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Acotland, UK., KA6 5HW.
- **Théodore Monod,(1984)**. Le vent et les êtres vivants au Sahara. Travaux de l'Institut de Géographie de Reims . [en ligne]..59-60 pp. 137-142. Disponible sur : https://www.persee.fr/doc/tigr_0048-7163_1984_num_59_1_1158
- **Thérond P. (2003)**. Le sélénium : un oligo-élément essentiel pour la santé humaine cahiers de Nutrition et de diététique, 38(4) p. 250-256
- **Vilas A., Kamble.,(2012)**. In vitro anticandidal activity of pimentadioica (allspice) essential oil against clinical isolates of *candida albicans*and non-albicans candida. *Internationaljournal of life science and pharma reaserch.* 2: 150-158.
- **Zaika LL., (1988)**.Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. Journal of food safety. 9(2): 97-118.
- **Zenk, M.H., Juenger, M. (2007)** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. Phytochemistry Review 68, 2757 – 2772

ANNEX

ANNEX 01 : Résultats des tests préliminaire (partie aérienne)

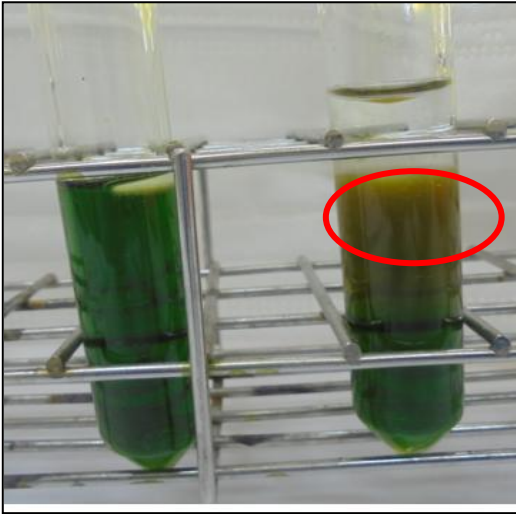


Figure 1 : test d'identification des tritépènes.

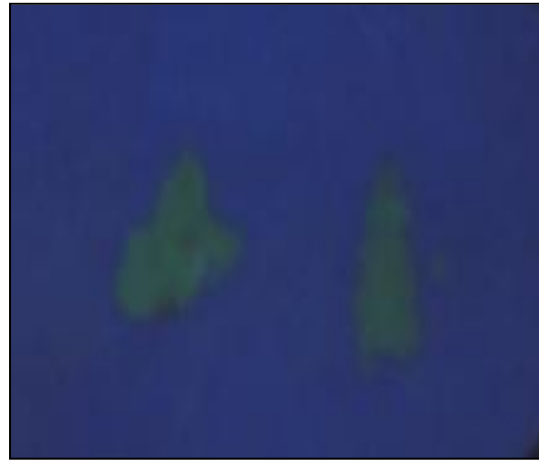


Figure 2 : test d'identification des coumarines.

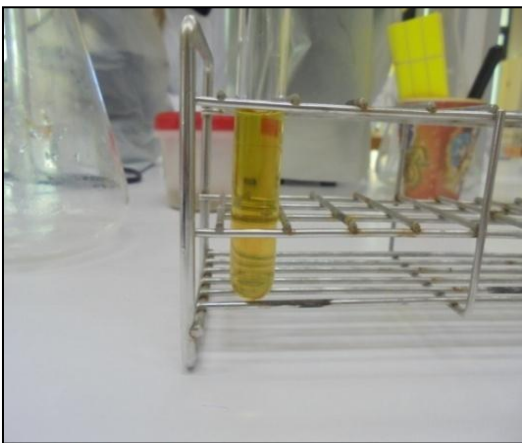


Figure 3 : test d'identification des tanins.



Figure 4 : test d'identification des tanins galliques.

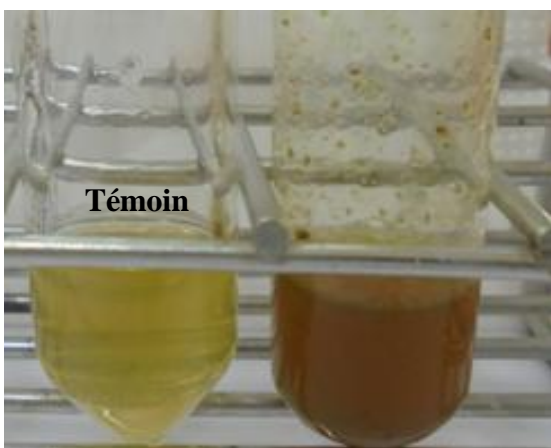


Figure 5 : test d'identification des glucosides.

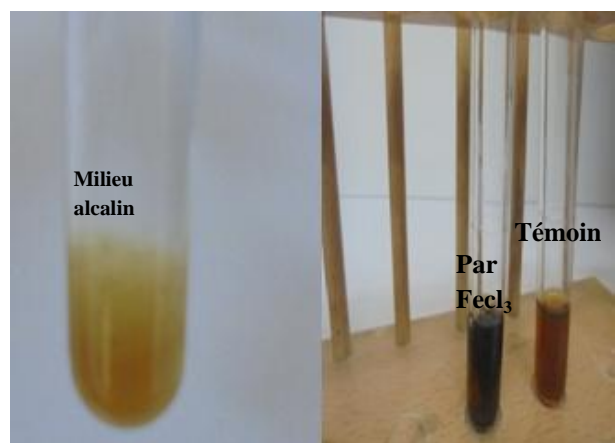


Figure 6 : test d'identification des flavonoïdes.

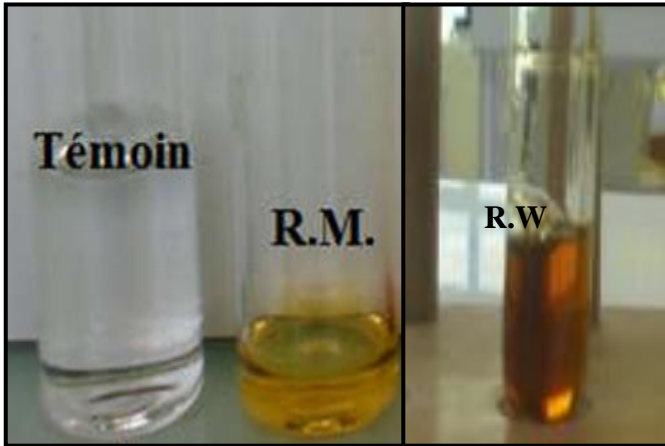


Figure 7 : test d'identification des alcaloïdes.

R.M : réactif Mayer R.W :réactif Wagner

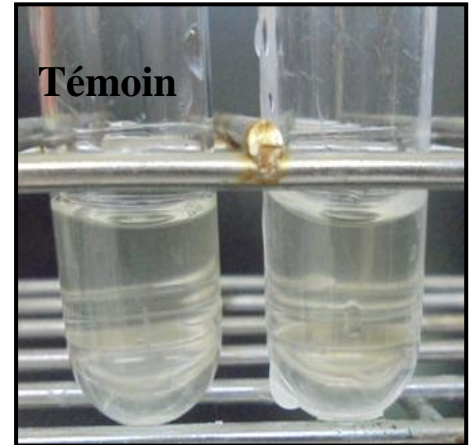
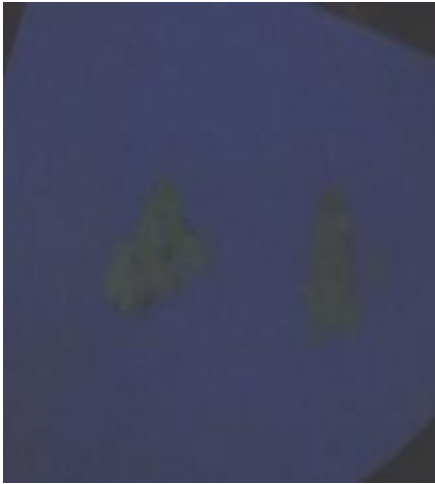


Figure 8 : test d'identification des mucilages.

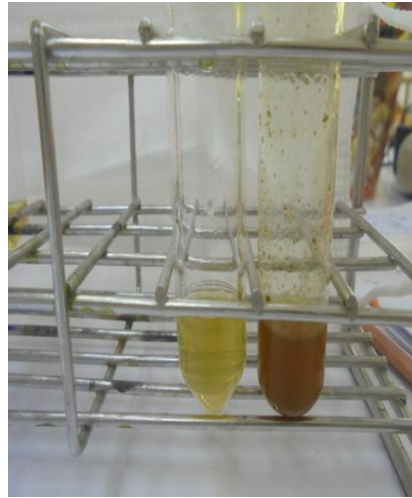


Figure 6 : test d'identification des saponosides

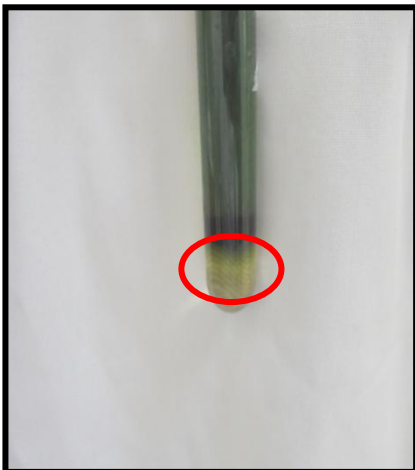
ANNEX 02 :Résultats des testes préliminaire (partie racinaire)



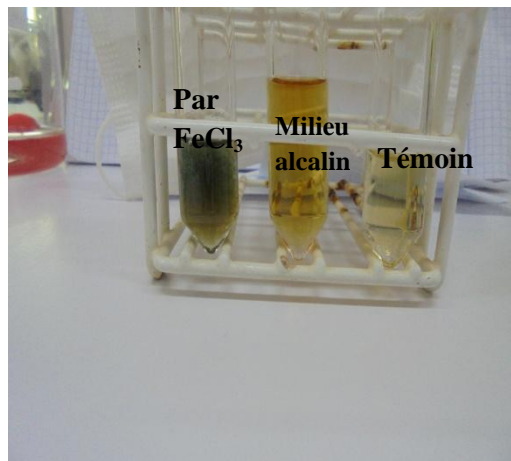
Identification des coumarines



Identification des glycosides



Identification des tritépènes



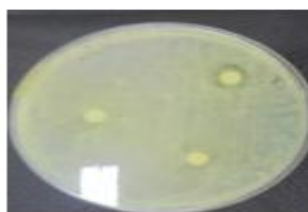
Identification des flavonoïdes

Annex 03 : Résultats d'aromatogramme

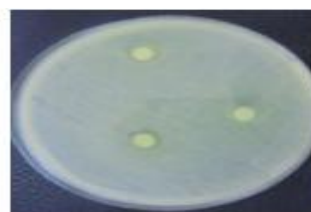
Partie aérienne



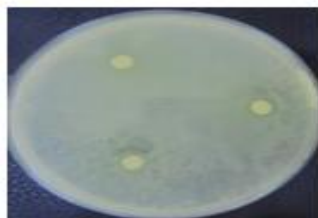
Klebsiella pneumoniae P.



S. aureus P.



S. aureus IH.



Enterobacter cloacae IH.



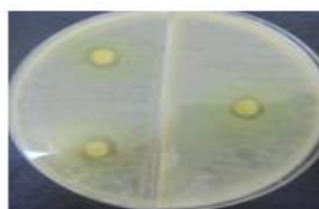
Enterobacter cloacae.



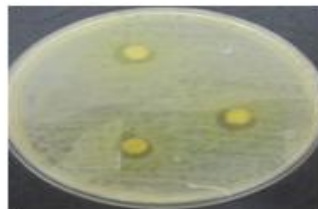
Acinetobacter baumannii IU.



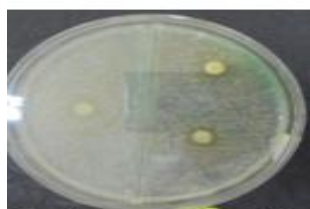
Klebsiella pneumoniae IU.



Pseudomonas aeruginosa U.



Klebsiella Oxytoca.



Pseudomonas aeruginosa IU.



Klebsiella Carbapenemase.



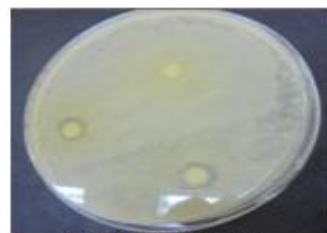
E. coli U.



Citrobacter koseri IH.



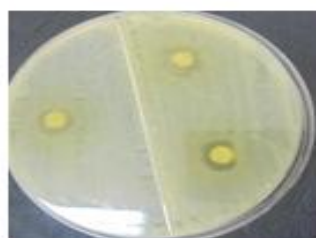
E. coli IU.



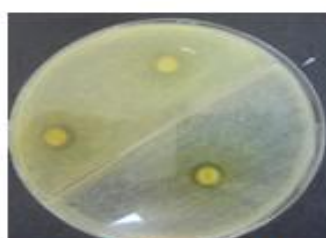
E. coli ATCC 25922.



S. aureus ATCC 25923.



S. aureus ATCC 43300.



Acinetobacter baumannii U.



S. epidermidis.



Citrobacter koseri P.

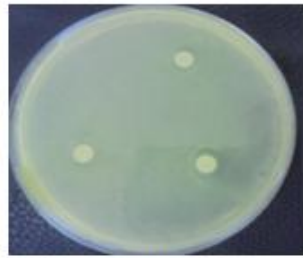


Proteus sp.

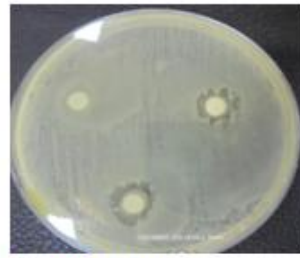
Partie Racinaire



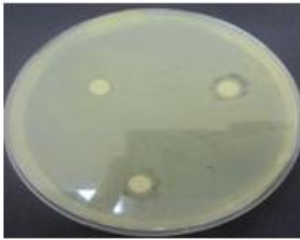
Klebsiella pneumoniae.



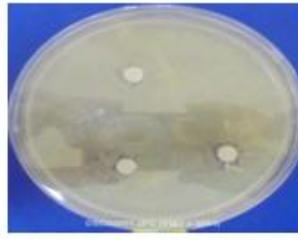
S. aureus IH.



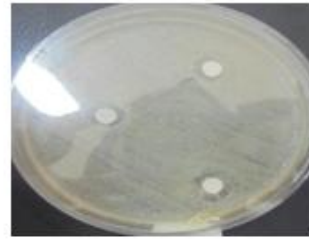
Enterobacter cloacae.



Acinetobacter baumannii IU.



Klebsiella pneumoniae IU.



E. coli U.



S. epidermus.

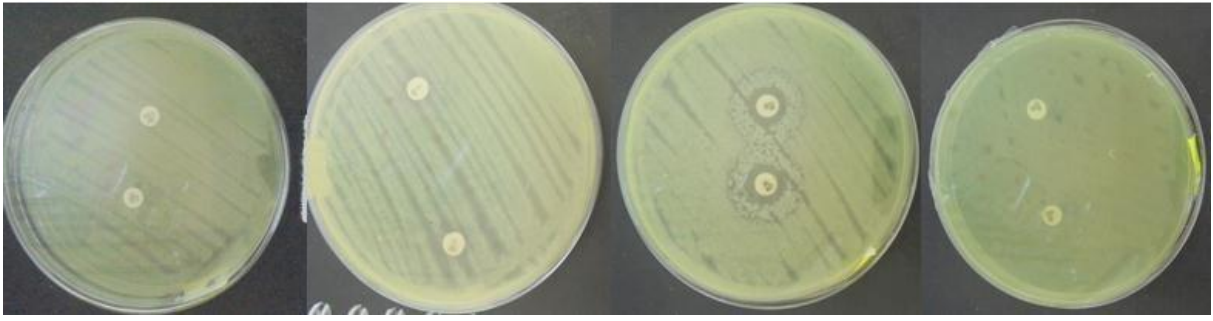


Citrobacter koseri P.

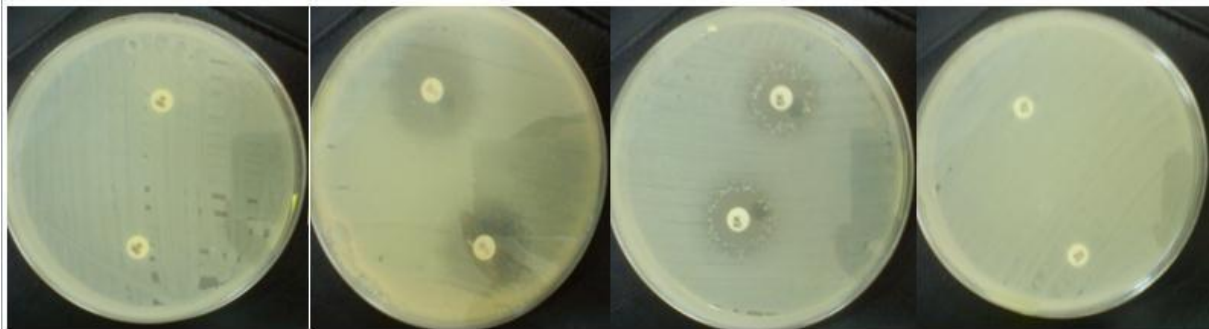


Proteus sp.

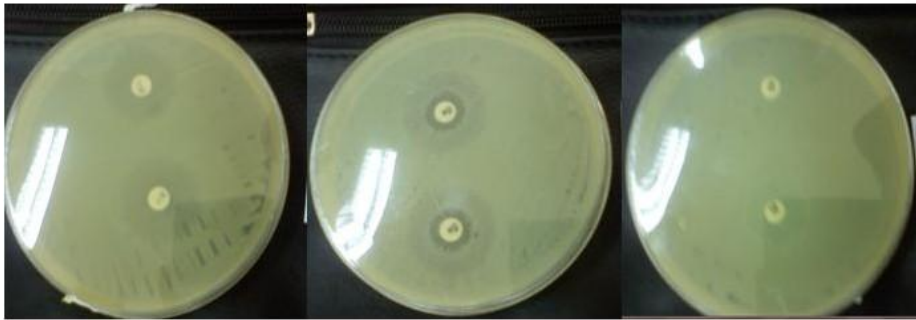
Annex 04 : résultat d'antibiogramme



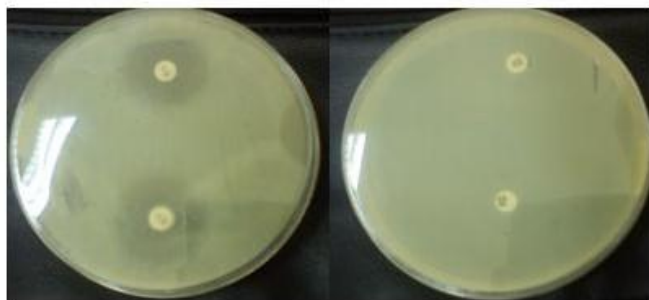
Klebsiella pneumoniae P avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



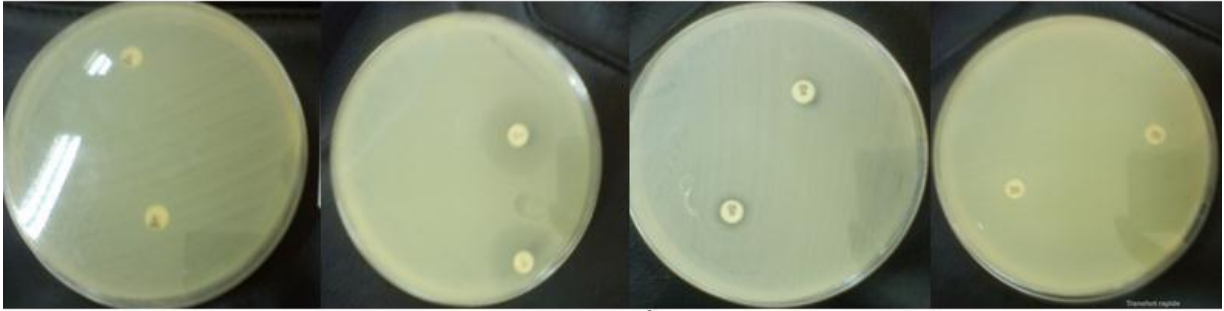
S. aureus P avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



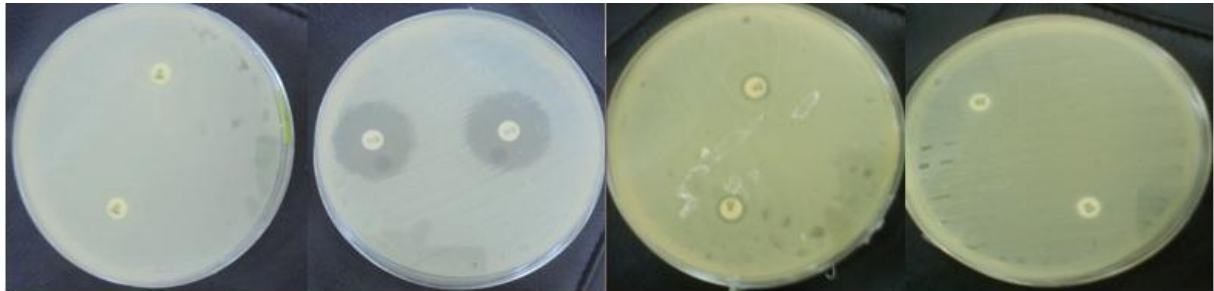
S. aureus IH avec chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



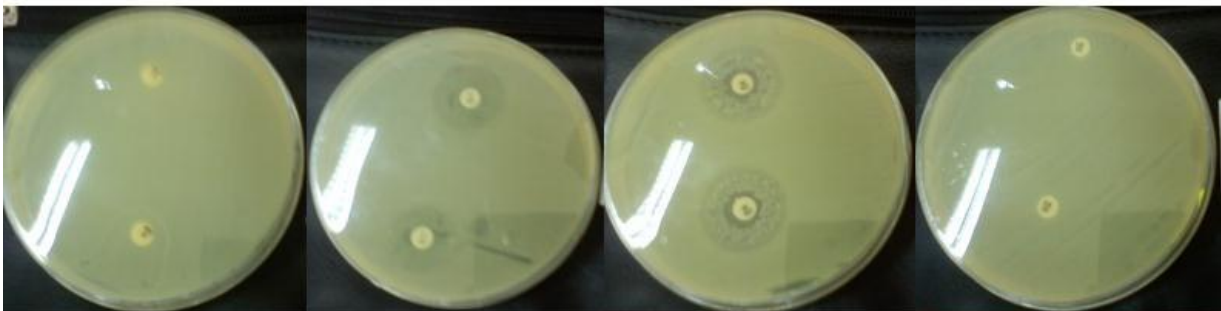
Enterobacter cloacae IH avec la chloramphénicol et vancomycine.



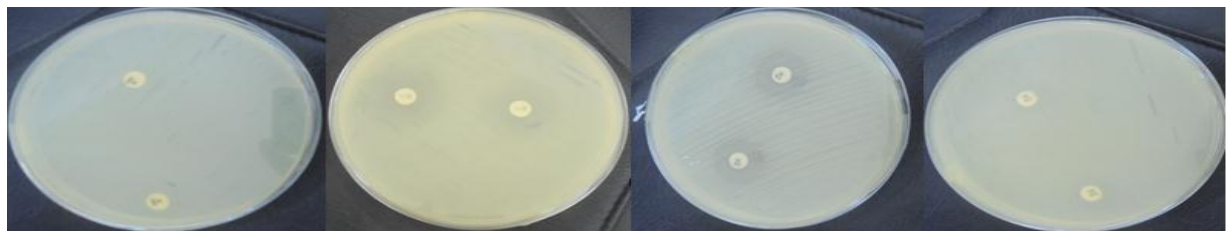
Enterobacter cloacae avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine



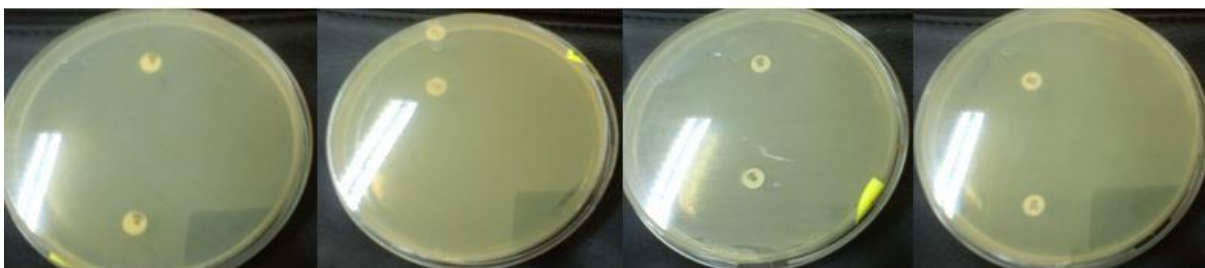
Acinetobacter baumannii IF avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



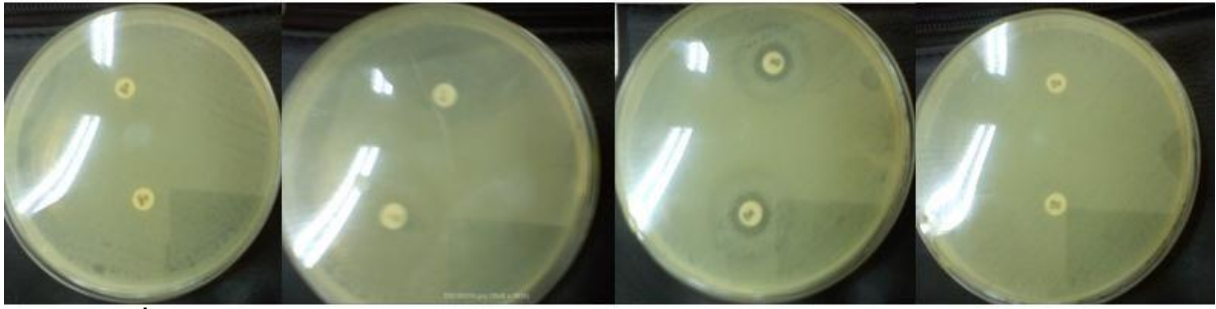
Klebsiella U avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



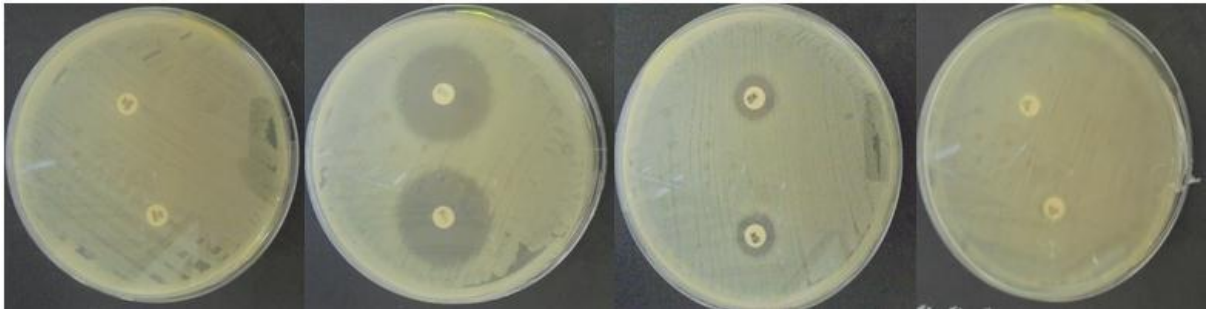
Pseudomonas aeruginosa IF avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



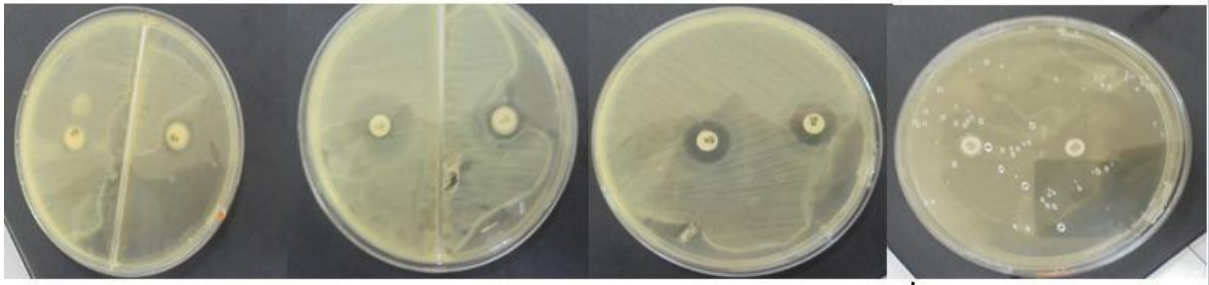
Klebsiella oxytoca avec l'amoxiclave, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



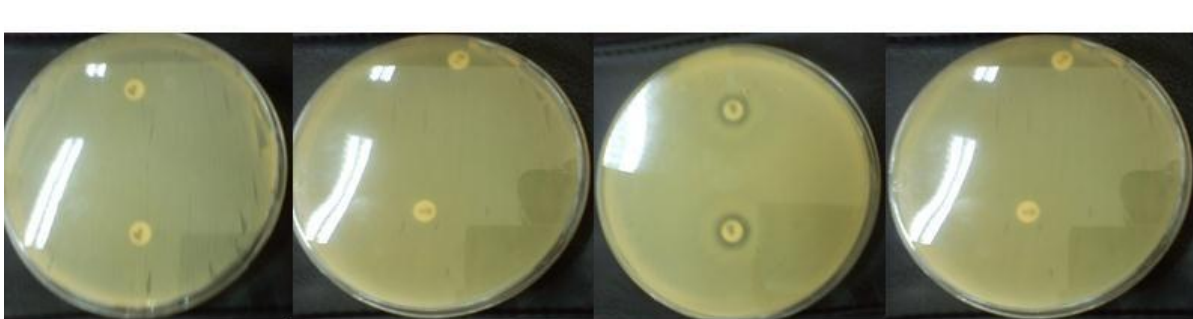
S. epidermidis avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



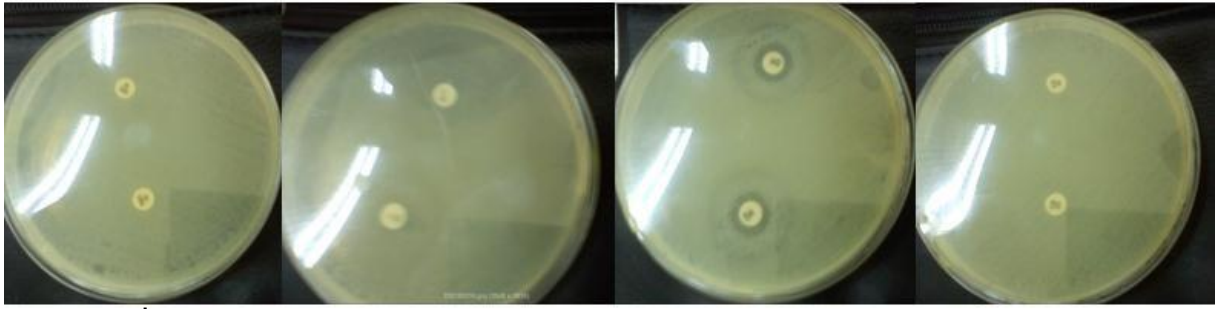
Citrobacter koseri IH avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



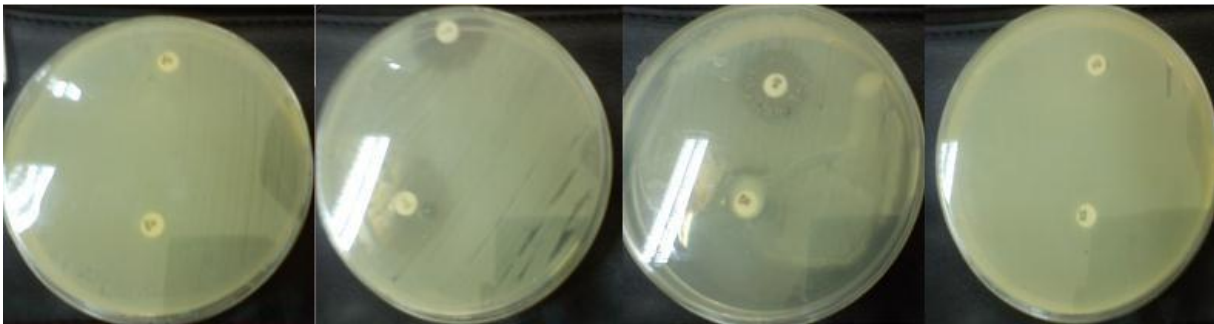
Proteus sp avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



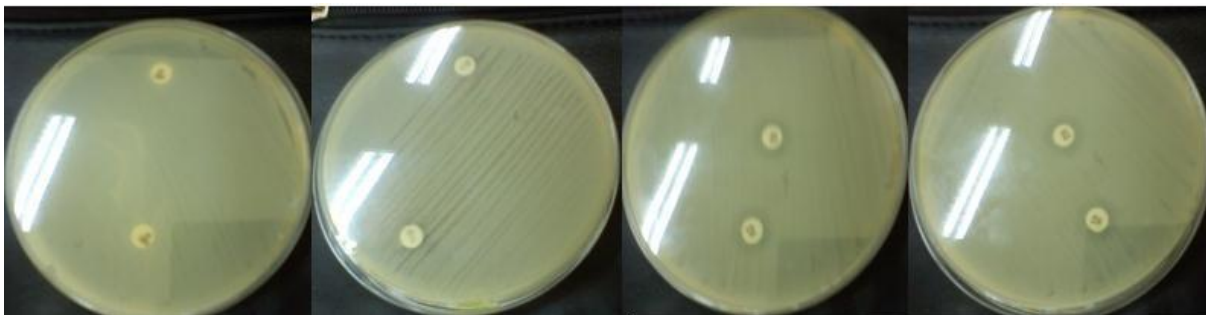
E. coli IH avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



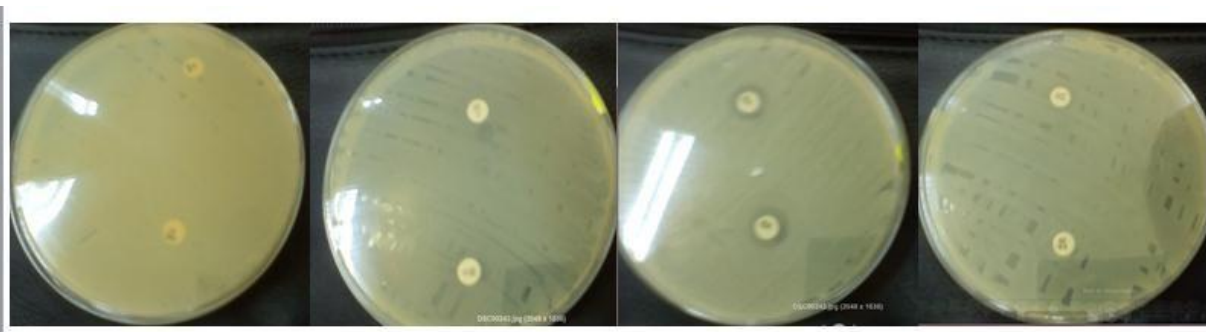
Pseudomonas aeruginosa IH avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



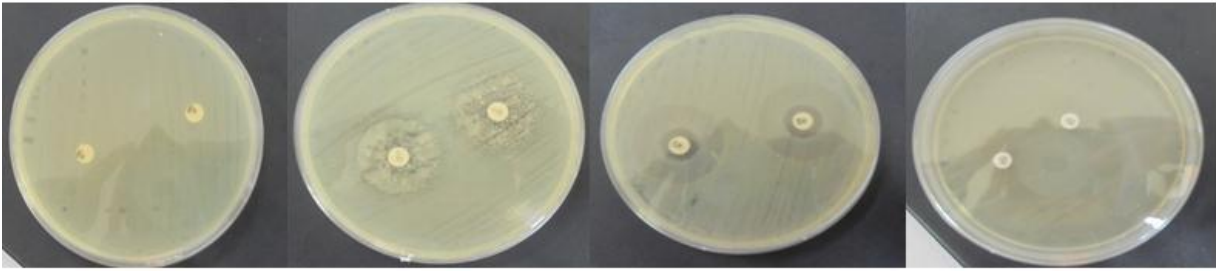
Klebsiella Carbapenemase avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



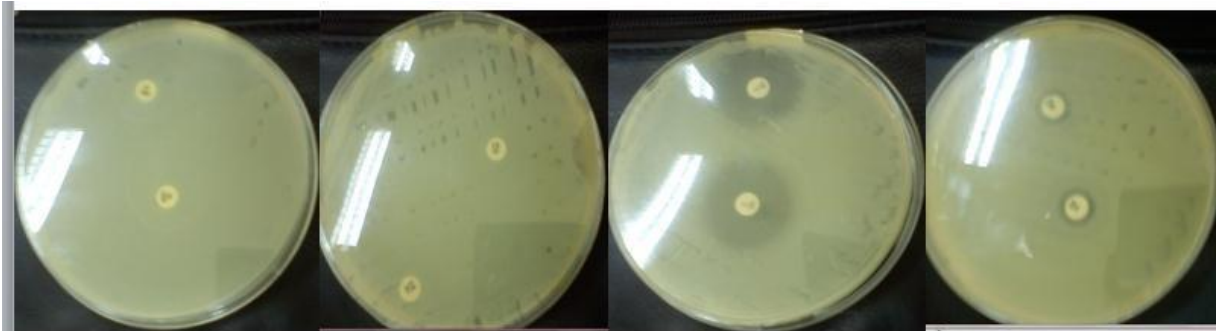
Citrobacter koseri P avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



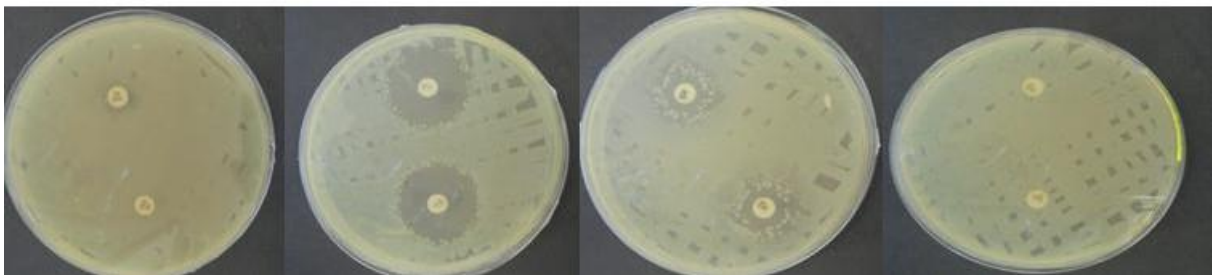
Acinetobacter baumannii IH avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



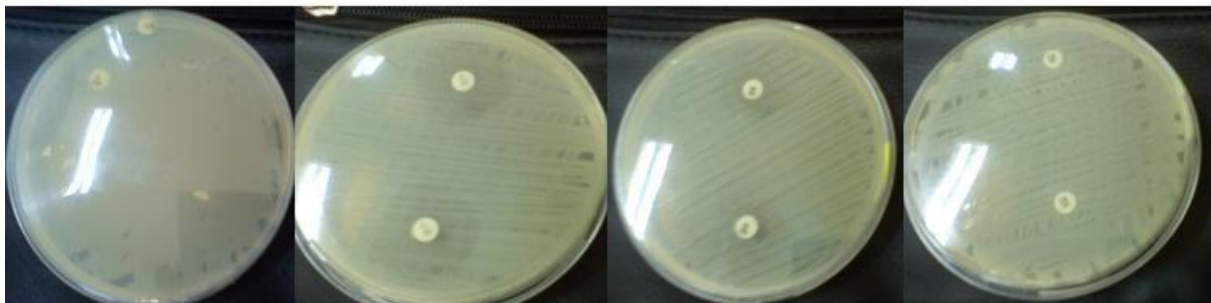
S. aureus (ATCC) 25923 avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.



S. aureus (ATCC) 43300 avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.

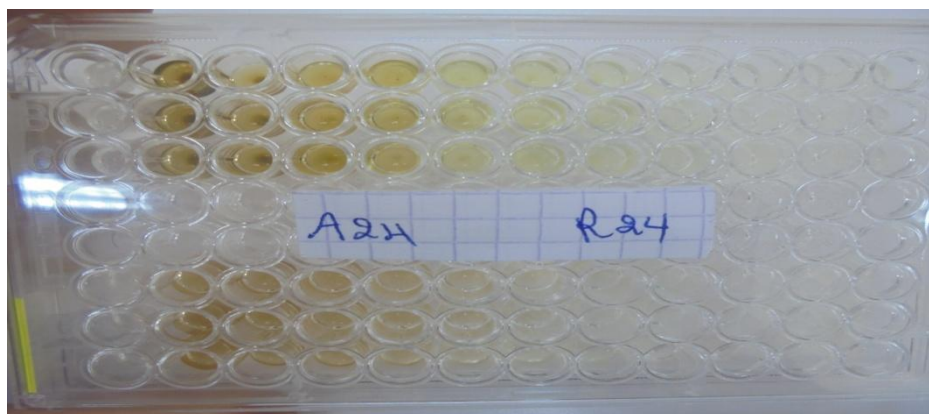


E. coli IF avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement

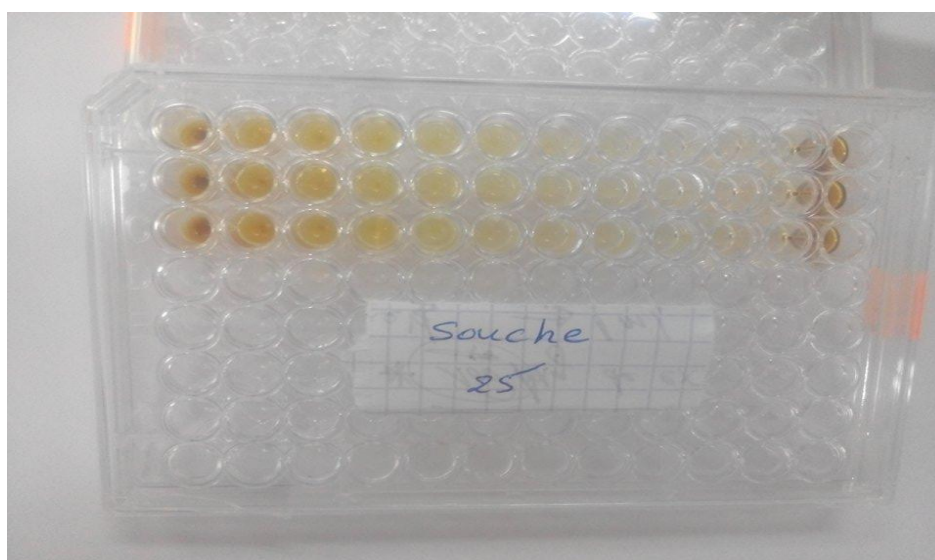


E. coli (ATCC) 25922 avec l'amoxiclavate, chloramphénicol, gentamicine et vancomycine respectivement.

Annex 05 : quelques résultats de CMI et CMB



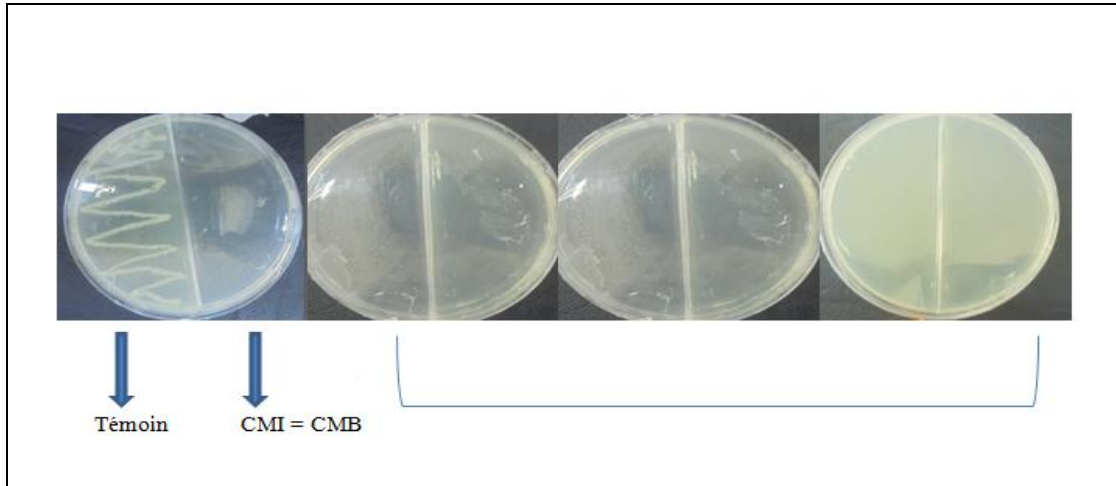
CMI de *Acinetobacter baumannii* IH



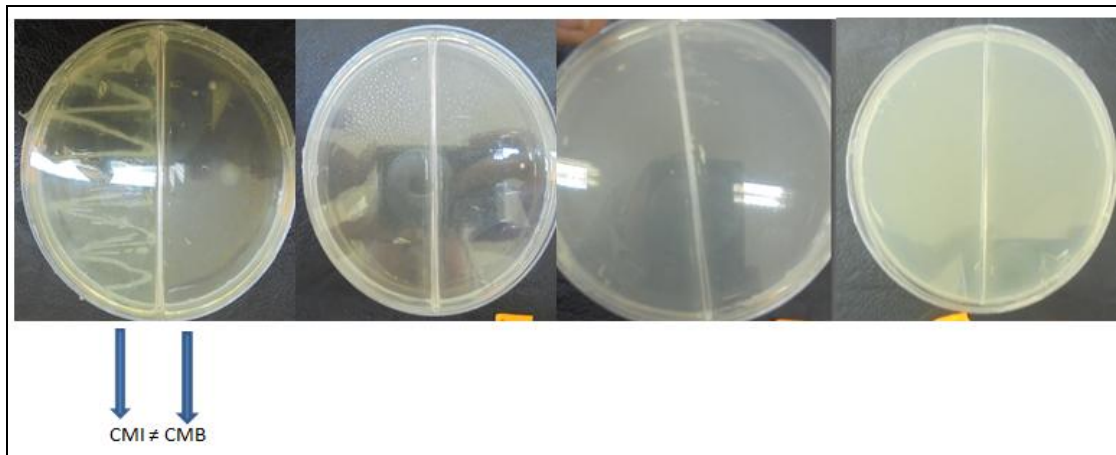
CMI de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



CMI de *Klebsiella pneumoniae* IU



CMB de *Pseudomonas aeruginosa IH*



CMB de *Klebsiella carbapenemase*



Absence de CMB pour *proteus sp*

Annex 05 : Origine des souches cliniques

Souches	Origine
<i>Acinetobacter baumannii IH</i>	Infection urinaire
<i>Acinetobacter baumannii IF</i>	Infection urinaire
<i>Citrobacter koseri P</i>	Pus
<i>Citrobacter IH</i>	Infection homme
<i>E. coli IH</i>	Infection urinaire
<i>E. coli IF</i>	Infection urine
<i>Enterobacter cloacae IH</i>	Infection homme
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Infection urinaire
<i>Klebsiella pneumoniae IU</i>	Infection urinaire
<i>Klebsiella pneumoniae P</i>	Pus
<i>Klebsiella. Carbapenemase</i>	Infection urinaire
<i>Proteus sp.</i>	Infection urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa IH</i>	Infection urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa IF</i>	Infection urinaire
<i>S. aureus P</i>	Pus